

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1903-1904. — N° 64.

Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et comparée
de l'Université de Lyon.

ÉTUDE

SUR LA

STÉRILISATION DU LAIT

Dans ses rapports avec la prophylaxie
de la Tuberculose

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 21 décembre 1903

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Victor FOURNIER

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

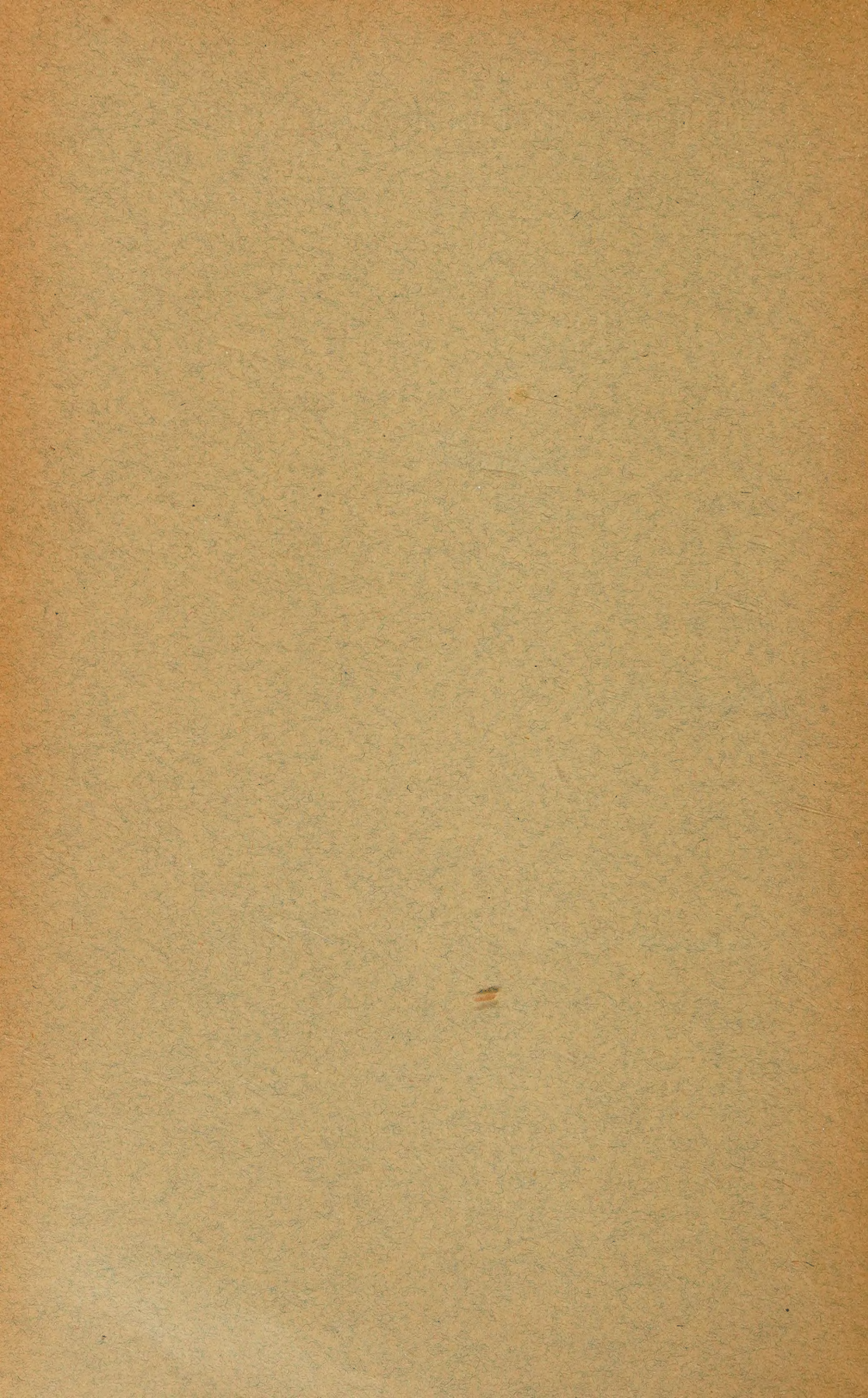
Né à Viplaix (Allier), le 13 juillet 1879



LYON, IMPRIMERIE R. SCHNEIDER

Quai de l'Hôpital, 9.

1903



Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et comparée
de l'Université de Lyon.

É T U D E
SUR LA
STÉRILISATION DU LAIT

Dans ses rapports avec la prophylaxie
de la Tuberculose



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1903-1904. — N° 64.

Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et comparée
de l'Université de Lyon.

ÉTUDE

SUR LA

STÉRILISATION DU LAIT

Dans ses rapports avec la prophylaxie
de la Tuberculose

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 21 décembre 1903

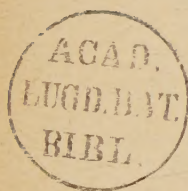
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Victor FOURNIER

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

Né à Viplaix (Allier), le 13 juillet 1879



LYON, IMPRIMERIE R. SCHNEIDER

Quai de l'Hôpital, 9.

1903

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET DOYEN.
LACASSAGNE ASSESSEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, CHAUVEAU.

PROFESSEURS

Cliniques médicales.	{	MM. LÉPINE.
Cliniques chirurgicales		BONDET.
Clinique obstétricale et Accouchements.	{	BARD.
Clinique ophtalmologique		PONCET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	{	JABOULAY.
Clinique des maladies mentales.		X.
Clinique des maladies des enfants.	{	GAYET.
Physique médicale		GAULLETON.
Chimie médicale et pharmaceutique.	{	PIERRET.
Chimie organique et Toxicologie		WEILL.
Matière médicale et Botanique	{	MONOYER.
Parasitologie.		HUGOUNENQ.
Anatomie	{	CAZENEUVE.
Anatomie générale et Histologie.		BEAUVISAGE.
Physiologie	{	LORTET.
Pathologie interne.		TESTUT.
Pathologie externe	{	RENAUT.
Pathologie et Thérapeutique générales.		MORAT.
Anatomie pathologique	{	TEISSIER.
Médecine opératoire.		AUGAGNEUR.
Médecine expérimentale et comparée.	{	MAYET.
Médecine légale		TRIPPIER.
Hygiène.	{	POLLOSSON (M
Thérapeutique		ARLOING.
Pharmacologie	{	LACASSAGNE.
		COURMONT (J.).
		SOULIER.
		FLORENCE.

PROFESSEUR ADJOINT

Physiologie, cours complémentaire M. DOYON.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des maladies des femmes.	MM. POLLOSSON (A.), agrégé.
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX, —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	LANNOIS, —
Propédeutique médicale	ROQUE, —
Propédeutique chirurgicale.	ROLLET, —
Propédeutique de gynécologie.	CONDAMIN, —
Anatomie pathologique	DEVIC, —
Accouchements.	FABRE, —
Matière médicale	MOREAU, —
Anatomie topographique.	DURAND, —

AGRÉGÉS

MM. ROUX.	MM. SIRAUD.	MM. BÉRARD.	MM. VILLARD.
COLLET.	DURAND.	SAMBUC.	TIXIER.
BOYER.	PIC.	BORDIER.	FABRE.
BARRAL.	PAVIOT	COURMONT (P.).	REGAUD.
MOREAU.	NOVE-JOSSERAND.	CHATIN.	CAUSSE, ch...
VALLAS.			

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. ARLOING, Président ; ROUX, Assesseur ;

MM PAVIOT et COURMONT (P.), Agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE
ET DE MES GRANDS-PARENTS

A MA MÈRE

A qui je dois tout. Bien faible
témoignage de ma profonde grati-
tude et de mon affection sincère.

A MA SOEUR

En reconnaissance de son dévoue-
ment. Qu'elle soit assurée de toute
mon affection et de mon inaltérable
attachement.

A MES PARENTS

A MES AMIS

A M. le Professeur ARLOING

CORRESPONDANT DE L'INSTITUT

Nous tenons à remercier, au début de ce travail : M. le Professeur Arloing, qui nous ouvrit les portes de son laboratoire, où nous avons trouvé pendant deux ans des ressources multiples et un accueil toujours aimable. Nous sommes heureux et fier d'avoir pu travailler aux côtés d'un maître aussi éminent et d'avoir pu profiter, trop peu sans doute, de ses savantes leçons. C'est à lui que revient l'idée première de ce travail; il a bien voulu nous aider constamment de ses conseils et nous apporter l'appui de sa haute compétence et de sa précieuse bienveillance. Nous ne saurions trop lui exprimer toute notre gratitude, et le remercier du nouveau témoignage de sympathie qu'il nous donne et de l'honneur qu'il nous fait, en acceptant aujourd'hui la présidence de notre thèse. C'est pour lui un titre de plus à notre reconnaissance; il n'en était pas besoin pour qu'il fût assuré de notre attachement sincère et de notre dévouement.

M. le Professeur agrégé Paul Courmont a été pour nous pendant ces deux ans un maître aimable et bienveillant qui ne nous a pas ménagé ses conseils. Il fait aujourd'hui partie du jury de notre thèse. Nous ne saurions trop le remercier et lui exprimer toute notre reconnaissance.

A M. le Docteur Nicolas qui sait joindre, à beaucoup de science, une complaisance dont nous avons

peut-être abusé, et une affabilité dont nous lui savons gré, nous adressons un souvenir ému.

M. le Docteur Bancel fut notre premier guide dans la science difficile de la bactériologie. Nous avons trouvé en lui un conseiller éclairé, un camarade agréable et complaisant, un ami; qu'il soit assuré de notre amitié sincère.

Merci à M. le Docteur Descos dont nous avons mis si souvent l'obligeance à contribution.

MM. les Professeurs agrégés Roux et Paviot veulent bien faire partie du jury de notre thèse; qu'ils reçoivent ici l'hommage de notre respectueuse gratitude.

V. F.

INTRODUCTION

La lutte contre la tuberculose, plus encore que la guerre à l'alcoolisme, est au premier rang des préoccupations hygiéniques de ce début du vingtième siècle. C'est la question à l'ordre du jour et l'on voit à chaque instant la presse, spéciale ou non, enregistrer quelque mesure nouvelle pour essayer d'enrayer le mal de plus en plus menaçant. On s'attache surtout à éviter la contagion d'homme à homme la plus fréquente, mais ce point capital n'est pas suffisant; le danger est ailleurs encore, en dehors de nous-mêmes; car, en dépit de l'opinion émise d'une façon si retentissante par un savant des plus autorisés, il est aujourd'hui admis sans conteste qu'il nous faut nous prémunir contre une contagion possible de la part des animaux, des bovidés principalement, les plus sujets à la tuberculose. Du reste, tout récemment, le Congrès de Bruxelles, s'attaquant à la question, estimait en matière de conclusion « qu'il y a lieu de prescrire des mesures contre la possibilité de l'infection de l'homme par les animaux. »

Sur ce point, la première précaution à prendre doit viser le véhicule habituel du contagement tuberculeux, le *lait*, intermédiaire entre l'homme et les animaux.

La récente communication de M. von Behring est

venue donner à la question un intérêt nouveau et en même temps accroître les inquiétudes. Le savant professeur de Marbourg considère en effet le lait tuberculeux comme la cause presque exclusive de la propagation de la phthisie et lui fait jouer un rôle capital dans l'étiologie de la tuberculose humaine. De son rang de cause essentielle et presque exclusive de contagion, le crachat, doit, d'après von Behring, descendre à une place plus modeste et céder le pas à la contagion par le lait. « Toute tuberculose est d'origine alimentaire, et l'aliment en cause est le lait. »

L'étude des dangers du lait tuberculeux et de leur prophylaxie trouvait dans cette idée un intérêt nouveau, d'autant plus que sur le point plus spécial de la stérilisation du lait, des expériences faites récemment par Beck, à Berlin, étaient venues ranimer d'anciennes discussions apaisées et de vieilles polémiques éteintes, et laissaient cependant la solution en suspens.

Il nous a paru intéressant de faire quelques expériences sur la stérilisation du lait bacillaire. M. le professeur Arloing a bien voulu nous charger d'étudier la question et nous a apporté au cours de nos recherches le secours précieux de sa compétence. Nous n'avons pas la prétention de donner aujourd'hui la solution de ce problème très discuté ; nous voulons simplement faire un exposé historique et critique des dangers de la tuberculose alimentaire, de la fréquence du lait tuberculeux, de sa stérilisation ; nous rapporterons l'opinion des auteurs sur la résistance du bacille de Kock à la chaleur lorsqu'il

nage dans le lait. Après quoi nous exposerons une série d'expériences personnelles dont les résultats nous ont paru intéressants.

Sans doute, elles ne permettront pas de trancher d'emblée une question si complexe, mais nous nous estimerons heureux si elles peuvent contribuer à son éclaircissement et à sa solution prochaine.

Ce travail comprend deux parties :

Une première partie, historique et critique, qui se divisera en trois chapitres :

CHAPITRE PREMIER. — *Le lait tuberculeux. Sa fréquence. Ses dangers. Moyens de les éviter.*

CHAPITRE DEUXIÈME. — *Stérilisation par la chaleur. Le lait stérilisé. Sa valeur alimentaire.*

CHAPITRE TROISIÈME. — *Destruction par la chaleur du bacille de Koch dans le lait.*

Une deuxième partie comprendra l'exposé de nos expériences.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

**Le lait tuberculeux. — Sa fréquence.
Ses dangers. — Moyens de les éviter.**

L'unité de la tuberculose humaine et de la tuberculose bovine est actuellement une notion bien acquise et scientifiquement démontrée. En dépit de la communication de Koch, « estimant que l'étendue de l'infection par le lait et la viande des bovidés tuberculeux est difficilement plus grande que celle de la tuberculose héréditaire et que, par conséquent, il n'est pas utile de prendre aucune mesure contre elle » ; en dépit de ses observations, de ses expériences qui prêtent si souvent le flanc à la critique, la presque unanimité des savants, forts des résultats obtenus par les premiers expérimentateurs, les Villemin, les Chauveau, les Gerlach, pour ne citer que les plus illustres ; confirmés dans leur opinion première par les expériences nouvelles d'Arloing, de Nocard, de Gratia, de Mac Fadyean, d'Ostertag, de Bang, de von Behring et de tant d'autres, sont d'avis qu'il faut se défendre contre le danger de la tuberculose bovine et prendre

des mesures pour éviter l'infection par les deux intermédiaires principaux : la viande et le lait.

Et, au risque d'être paradoxal, nous pourrions dire que l'affirmation de Koch « *lancée comme une bombe* » au Congrès de 1901, a rendu un service à la cause de l'unité ; car ce fut au camp des unicistes, après un instant de stupeur, une ardeur nouvelle, et des expérimentateurs nombreux, avec autant de dévouement parfois que de science, apportèrent à l'appui de leur opinion un faisceau de preuves nouvelles, dont la valeur est d'autant plus grande que, voulant échapper à tout reproche, ils apportèrent dans leurs recherches plus de conscience, plus de minutie.

Nous n'insisterons pas sur la question de la *viande* des bovidés tuberculeux. Très discutée, elle a suscité des travaux nombreux, souvent forts remarquables, qui, avec Chauveau et Arloing, avec Nocard, Galtier, Mac Fadyean, Perroncito, Kastner ont montré l'innocuité presque constante de la viande et du suc musculaire, si on prend bien soin d'éviter les ganglions et les noyaux indurés du tissu conjonctif ; tandis que Semmer, Veyssière et Humbert, Peuch, Brown apportent quelques résultats positifs d'inoculation, par ingestion.

Plus importante, osons-nous dire, est la question du *lait* (et c'est à elle que nous nous attachons) car le lait, liquide alimentaire de premier ordre, qui occupe dans notre nourriture journalière une place assez large, qui forme la base de l'alimentation presque exclusive de l'enfant et de beaucoup de nouveau-nés, est plus facilement le véhicule du contagé tuberculeux

puisque, plus souvent que la viande, il est consommé cru.

Le lait cru est-il donc dangereux et risque-t-il de transmettre la tuberculose de l'animal à l'homme ?

Tel n'est pas l'avis du professeur Koch ; s'appuyant sur l'extrême rareté de la tuberculose intestinale primitive (Baginsky, Biedert), il l'explique, dans ces cas rares, qu'il est forcé d'admettre, d'une façon un peu singulière, par la déglutition des bacilles respirés et entraînés par la salive, et soutient que nous n'avons rien à craindre du lait des bovidés, si riche qu'il soit en bacilles. A l'encontre de cette opinion, il est cependant admis que le danger est réel et que la contagion n'est pas une exception. Certaines observations, malheureusement trop nombreuses, sont très démonstratives à ce sujet. Nous ne ferons que rappeler les faits constatés par Brouardel qui cite cinq cas de tuberculose, dans un pensionnat où l'on consommait du lait d'une vache tuberculeuse ; par Hüls, par Gosse, Stang, Pruemers, Bang, Uffelmann et tant d'autres. Toutes ces observations, bien analysées, ont la valeur et la force de preuves indiscutables ; et Max Wolff, tout récemment, est venu les confirmer et apporter un cas nouveau qui a d'autant plus de valeur que sa constatation est postérieure au Congrès de Londres.

Du reste pourquoi le lait, qui souvent contient des bacilles, tout le monde le reconnaît, ne transmettrait-il pas la tuberculose, puisqu'aussi bien on a des observations nettes d'inoculations accidentelles, et que nombreux sont les vétérinaires qui ont vu se dévelop-

per chez eux des lésions typiques de tuberculose au niveau d'une blessure faite à l'autopsie d'une vache ?

On nous objecte également que la tuberculose du veau est rare et que c'est une preuve manifeste de l'innocuité du lait. Mais cette tuberculose est-elle soigneusement recherchée, et du reste, à l'âge auquel sont tués les veaux dans les abattoirs, a-t-elle eu le temps d'évoluer et de donner des lésions bien nettes ? D'ailleurs nous n'avons pas soutenu que les cas de tuberculisation de l'homme par le lait de vache fussent des cas très fréquents ; mais nous soutenons qu'ils existent et que par conséquent il faut les éviter. Du reste, en Allemagne même, Fiebigger, imbu des idées de Koch, a dû convenir qu'en moins d'un an, dans un service hospitalier peu chargé il avait trouvé neuf cas de tuberculose intestinale primitive, dont la contagion par le lait était la cause certaine. Irons-nous jusqu'à soutenir avec le professeur von Behring que toute tuberculose est d'origine alimentaire et que l'aliment coupable est le lait, « la principale source de la phtisie ». Non, sans doute ; nous croyons que l'élément essentiel de contagion est le crachat, mais nous soutenons aussi que le lait, pour être relégué au second plan, n'en joue pas moins un rôle important dans l'étiologie de la tuberculose humaine.

Du reste, l'expérimentation apporte ici son contingent de preuves. Dès 1868, Chauveau, puis Gerlach (1869), Klebs (1873) viennent en faire la preuve décisive. L'étude détaillée des recherches de Bollinger est, à ce sujet, particulièrement intéressante. La contagiosité par le lait, soupçonnée par lui et entrevue

dès 1873 lui apparaît de plus en plus au cours de ses recherches ultérieures comme une certitude : ses expériences relatées en 1878 d'abord, puis renouvelées et confirmées dix ans plus tard, confirment en lui cette opinion que l'ingestion de lait tuberculeux est un danger. Ses élèves, Hirschberger, May, apportent des faits nouveaux, si bien qu'après 30 ans de recherches, Bollinger en arrive à conclure que les vaches atteintes de tuberculose soit généralisée, soit même localisée donnent un lait très dangereux, surtout pour les enfants qui en ingèrent des quantités relativement considérables.

Entretemps, Peuch (1880) apporte à la cause défendue par Bollinger l'appui d'expériences démonstratives et Mac Fadyean, Nocard, Arloing viennent ensuite confirmer ces résultats.

Aussi bien, pourrait-on s'élever également contre la valeur de ce critérium posé par Koch et ses élèves de la nécessité d'une tuberculose primitivement localisée à l'intestin comme preuve de l'origine alimentaire de l'infection. Est-il réellement nécessaire que, pour passer du tube digestif dans l'organisme, le bacille laisse sur la muqueuse sa trace, sa signature. En sommes-nous toujours à la théorie du « chancre phtisiogène » de Conheim et Baumgarten ? Depuis longtemps M. le professeur Tripier a montré par un raisonnement bien simple le peu de valeur de cet argument. Tous les tuberculeux, dit-il, avalent leurs crachats, ou du moins avalent avec leur salive des bacilles, qui, de toute évidence sont pour eux très virulents. Or combien voyons-nous d'ulcé-

rations intestinales à l'amphithéâtre ? Et cependant on ne peut nier que les bacilles sont absorbés. Les expériences de Dobroklonsky, de MM. Nicolas et Descos sont à ce sujet très typiques. Les bacilles, sans y laisser de trace apparente, traversent la muqueuse intestinale et quelques heures après l'ingestion, on les peut trouver dans les chylières, dans les ganglions. « On est donc parfaitement autorisé à considérer comme une tuberculose d'origine alimentaire des lésions bacillaires des ganglions mésentériques qui, à l'examen, paraissent plus anciennes que toutes les autres, même quand il n'y a pas de lésion apparente sur la muqueuse intestinale. » (Marfan)

De plus, pourquoi l'intestin serait-il la seule porte d'entrée du bacille ? Pourquoi les amygdales, par exemple, que les notions nouvelles d'étiologie et de pathologie générale montrent comme une voie toujours ouverte à l'infection, ne laisseraient-elles pas pénétrer le bacille de Koch, et ne lui permettraient-elles pas d'aller s'implanter dans les ganglions du cou, dans les ganglions trachéo-bronchiques, et de là même jusqu'au poumon ? C'est du reste, une idée émise par Friedmann, par Grawitz qui formulent cette hypothèse comme parfaitement plausible, et capable d'attribuer une pathogénie toute nouvelle à la tuberculose pulmonaire.

Sans aller si loin et donner à la contagion alimentaire une importance aussi capitale, nous pouvons néanmoins soutenir, avec Arloing, avec Huëppe, avec Grawitz, avec Lister même, qui rapporta au Congrès de Londres, de nombreux cas de « tabès mésenté-

rique » observés chez les enfants, que l'infection par voie digestive n'est pas une rareté, tant s'en faut, et qu'elle n'exige, ni lésion primitive de la muqueuse intestinale, comme le voulait Koch, ni même une lésion des ganglions mésentériques. A l'appui de cette assertion, les expériences récentes de von Behring, ont prouvé nettement, combien, chez des animaux jeunes surtout, l'intestin est facilement perméable et avec quelle rapidité il se laisse traverser par les microbes pathogènes. Il est extrêmement probable, qu'il en est de même chez les enfants et que chez eux aussi, les bacilles, d'origine humaine ou bovine, contenus dans le lait, traversent comme un filtre la muqueuse intestinale, et de là se répandent dans l'organisme entier.

On nous oppose des statistiques, on nous dit (Tonzig, Biedert) que les mesures prises contre le lait à Padoue, à Rome et dans certaines villes allemandes, n'ont pas fait diminuer la mortalité infantile (1). Que ne ferait-on dire à des statistiques, et, du défaut de coïncidence des faits, faut-il conclure à un défaut de relation ? N'y a-t-il pas d'autres facteurs qui interviennent ? Du reste, s'il faut des chiffres, nous en pourrions fournir, et de plus probants. Thorne-Thorne cite ce fait, qu'en Angleterre, la diminution de la mortalité totale par tuberculose coïncide avec une augmentation de la mortalité infantile. Or, dit-il, on

(1) Notons que Tonzig, après cette assertion, est si peu convaincu, qu'il propose néanmoins de prendre des mesures contre les vaches tuberculeuses.

a pris des mesures pour l'assainissement des maisons, des ateliers ; on n'a rien fait pour protéger le lait. Notons aussi que d'après les statistiques, la mortalité par tuberculose intestinale, chez les enfants, est inversement proportionnellé au degré de surveillance du lait. Tandis qu'à Berlin, elle oscille entre 2 à 3 % des enfants de moins d'un an, morts par tuberculose, à Londres, elle va jusqu'à 40 %. Le danger est donc réel. Aussi, en France, en Allemagne, en Italie, à Genève, jusqu'en Colombie et en Pensylvanie, des règlements sévères toujours, mais mal observés parfois, essaient d'enrayer le mal. Depuis longtemps savants et hygiénistes le signalent et le redoutent. Après Chauveau, Vallin, après Böllinger, Arloing, Mac Fadyean, Hueppe réclament des mesures énergiques, et plus récemment encore Ostertag, Bang, Thomassen, Morot, Siegen, Stubbe, Flügge, Ascher signalent les méfaits du lait tuberculeux.

Or la tuberculose n'est pas rare chez les bovidés. M. Duclaux admet qu'en France 10 % au moins des vaches jugées saines, amenées à l'abattoir, sont tuberculeuses, et si l'on songe, ajoute-t-il, que beaucoup de ces vaches sont vieilles, et que par conséquent elles ont donné du lait pendant plusieurs années, on est effrayé du danger encouru. Au dernier Congrès d'hygiène de Bruxelles, M. Mullie, rapportant les résultats fournis par la tuberculine, donne les chiffres de 10 % en France, 20 % en Danemark, 25 % en Angleterre et jusqu'à 40 % en Belgique. Sonnenberger va même plus loin et arrive au chiffre de 60 %.

Par contre, le pourcentage des laits infectés donne des chiffres beaucoup plus favorables. Leslie Eastes a trouvé des bacilles dans 8 % et Klein dans 10 % seulement des échantillons de lait examinés. D'où vient donc cette différence de chiffres ? Sans doute, il faut se dire que les vaches fortement tuberculeuses ne donnent plus de lait, qu'elles figurent dans la première statistique et n'interviennent pas dans la seconde. Mais ce n'est là qu'une différence minime. Ne vaut-il pas mieux supposer que toute vache laitière tuberculeuse ne donne pas forcément du lait tuberculeux ? Ce fut l'opinion primitivement émise par Van Hersten qui, découvrant des lésions bacillaires dans la mamelle, y rattacha le caractère infectieux du lait. Après lui, Nocard, Smith, Galtier, Delépine soutiennent que le lait n'est virulent qu'autant que la mamelle est touchée. Or ces lésions mammaires surviennent le plus souvent à une période avancée de la maladie (car la tuberculose primitive de la mamelle, signalée par Bang, est extrêmement rare), et par conséquent il serait facile de dénoncer le danger et de le combattre. Cette assertion vient du reste d'être tout récemment confirmée par Phelps, par Douglas, par Basset, qui font précisément coïncider la rareté de la tuberculose mammaire avec le peu de fréquence relative de la tuberculisatation par le lait.

Cependant il semble que cette fois encore ce critérium soit en défaut. Les lésions mammaires ne sont pas indispensables. Dès 1879, Bollinger obtient des inoculations positives avec du lait de vaches dont la mamelle est intacte, Après lui, Band, Ernst Harold,

Bang, Mac Fadyean, Ernest et Peters de Boston, Ostertag et de Jong rapportent des expériences qui leur ont montré fréquemment la virulence d'un lait provenant de mamelles saines, mais seulement dans des cas où la tuberculose est avancée et qu'elle s'accompagne d'un amaigrissement considérable. Nocard lui-même a trouvé sur 54 expériences, 3 faits positifs. Il y a plus : Ernst, Rabinowitsch et Kempner, Hirschberger, Stein, Ravenel affirment que toute vache qui réagit à la tuberculine, c'est-à-dire qui présente des lésions de tuberculose soit généralisée, soit localisée, même en dehors de la mamelle, est susceptible de donner un lait virulent.

Comment expliquer ces divergences ? Ces résultats contradictoires ne seraient-ils pas simplement le fait d'une variation dans les procédés de recherche ? M. Mullie au Congrès de Bruxelles conciliait déjà les avis en disant que peut-être les lésions de la mamelle étaient nécessaires, mais qu'elles pouvaient être si minimes que le diagnostic en était impossible. Le harponnage même, préconisé par Nocard, ne donnerait pas la certitude qu'on en pourrait attendre et M^{me} Rabinowitsch a justement insisté sur l'infidélité de cette méthode.

Ajoutons à cela que des défauts de technique peuvent très bien modifier les résultats. La quantité de virus inoculé, la voie d'introduction, sont en pareille matière des facteurs d'une importance capitale et sur lesquels notre maître M. le professeur Arloing a souvent insisté et dont il a montré toute la valeur, récemment encore, dans sa réfutation des idées de Koch.

John Mohler qui a fait des expériences rigoureuses à ce sujet a pu constater que 15 à 20 % des vaches réagissant à la tuberculine, sans lésions mammaires, sans amaigrissement, avec un état général satisfaisant donnaient un lait qui pouvait être infectant, à condition qu'on inocule des quantités suffisantes, ou qu'on utilise le culot de centrifugation ou la crème plus riche en bacilles. M^{me} Rabinowitsch obtient des résultats identiques.

Du reste, on sait quelle est l'importance du nombre des bacilles inoculés et Wyssokowitch estime à 30 le nombre d'éléments microbiens nécessaires pour infecter un cobaye. Il est par suite facile de comprendre que, si l'on s'en tient à la simple inoculation à de faibles doses du lait de vaches qui présentent des lésions tuberculeuses localisées, en dehors de la mamelle, on aura le plus souvent des résultats négatifs ; peut-être dans ces cas une technique plus rigoureuse eût elle donné des résultats différents ; Hammond a pu déceler des bacilles dans du lait qui, inoculé au cobaye à la dose énorme de 30 cc., l'avait laissé absolument indemne.

La conclusion s'impose ; nous ne pouvons nier les faits positifs bien observés et nous devons admettre que toute vache tuberculeuse peut donner du lait bacillifère et par conséquent dangereux. Que ces bacilles soient rares, nous ne le contestons pas ; qu'ils soient incapables, de par leur petit nombre d'infecter un organisme normal et bien constitué, peut-être ; il est incontestable que pour un lait, le fait de contenir des bacilles n'implique pas forcément la transmission

obligatoire par lui de la tuberculose. Mais n'oublions pas, pour être rigoureux et arriver à des mesures hygiéniques sûres et efficaces, que l'absorption d'un tel lait par un enfant, dont il est la nourriture presque exclusive, par un nourrisson, souvent chétif et malingre et dont l'organisme se défend mal, est un danger qu'il faut éviter. C'est un point sur lequel ont insisté avec raison Nocard, Smith, Dinwiddie.

Qu'on se souvienne également de l'influence que peut avoir sur l'évolution d'une tuberculose déjà existante, l'introduction de nouveaux bacilles qui donnent un coup de fouet à la maladie et en hâtent l'évolution (Arloing). Du reste Mac Fadyean et Woodhead ont pu voir que dans le décompte de la mortalité infantile figurait avec le chiffre de 8 à 10 % la tuberculose due à l'ingestion de lait cru ou mal stérilisé. Ces constatations suffisent et, suivant le mot du professeur Arloing au Congrès de Bruxelles, « il serait illogique et souverainement imprudent de méconnaître le danger du lait des vaches tuberculeuses ; il faut s'efforcer de faire une œuvre de préservation naturelle, en conciliant autant que possible les exigences de la science et de l'hygiène avec les intérêts économiques. »

Cette conciliation, au fait, n'est pas œuvre facile ; cette lutte contre le lait tuberculeux soulève des problèmes ardues que nous verrons surgir à chaque instant dans la recherche des moyens préservatifs. Il ne faut pas songer comme on a bien voulu le prétendre, à agir contre les vaches laitières elles-mêmes. Cette mesure pour être bonne doit être absolue, et pour être absolue, disons-le sincèrement, elle se heurte à des

obstacles infranchissables. Va-t-on soumettre toutes les bêtes à l'épreuve de la tuberculine, méthode excellente sans doute, et procéder à l'isolement de toutes celles qui réagissent ? Mais comment dédommager les propriétaires et où prendre l'argent ?

Mieux vaut s'adresser directement au produit lui-même, *considérer le lait comme suspect*, puisqu'on n'est jamais sûr de son innocuité et essayer de le rendre inoffensif. Mais par quel procédé ?

Les méthodes proposées sont nombreuses et c'est une preuve évidente de leur peu d'efficacité et de leurs défauts. Nous ne dirons qu'un mot des procédés mécaniques. La *filtration*, inspirée des procédés de laboratoire, n'a rien donné. Le lait n'est pas un liquide ordinaire et cette méthode, même entre les mains de Seibert, nous amène à ce dilemme désagréable : ou laisser sur le filtre microbes et principes nutritifs du lait, ou voir passer à travers le coton filtrant les uns et les autres. Variot n'a pu que confirmer ces résultats. Quand à la *centrifugation*, proposée par Hueppe, elle n'a causé que des désillusions : elle est loin de donner la certitude nécessaire en pareille matière.

Nouvelles tentatives infructueuses d'application au lait de l'*antisepsie par substances chimiques*. Bien entendu, on ne pouvait songer aux antiseptiques énergiques ; il fallait recourir aux substances plus faibles et non toxiques. Le bicarbonate de soude, l'acide salicylique, l'acide borique, le borax, expérimentés par Lazarus, n'ont d'autre effet que de retarder la fermentation du lait. On a vaguement proposé, sans plus de succès, l'acide carbonique et l'oxygène.

Le seul antiseptique dont la valeur ait mérité la discussion a été l'*eau oxygénée*. Proposé il y a dix ans, expérimenté par Heidenhain, par Harriette Chick, par Huwart, à la dose de 1 à 2 pour 1000, il a donné des résultats insuffisants. Rosam et Barthel, reprenant la méthode de Budde combinent sans grand succès le chauffage à 40° ou 50° et l'addition d'eau oxygénée. Toujours il reste au lait une saveur désagréable et jamais on n'est sûr de sa stérilisation. Si bien qu'au prix de modifications désagréables du goût et de transformations chimiques, que M. Renard dit très instables, on n'acquiert aucune certitude.

Nous ne pouvons donc jusqu'ici compter sur les antiseptiques chimiques et nous devons chercher ailleurs. Restent les procédés physiques : *la chaleur* et *le froid*.

Les différentes constatations faites en bactériologie ne nous laissent pas beaucoup à espérer de l'action *du froid*. Les microbes y résistent si bien ! La congélation n'a jamais stérilisé aucun liquide, et, si elle a l'avantage immense d'arrêter le développement des germes, et par conséquent de permettre à grands frais une conservation prolongée du lait, si elle peut servir industriellement à sa concentration sans nuire à sa valeur nutritive, elle ne peut avoir aucune prétention à le débarrasser des microbes pathogènes.

En somme, de tous ces procédés aucun n'est satisfaisant et le champ si vaste se restreint considérablement. Nous avons comme dernière ressource *la chaleur* dont on connaît si bien les propriétés microbicides de premier ordre. C'est sur elle seule que

nous comptons et c'est ce procédé sur lequel ont porté nos recherches. Mais, avant d'aborder l'étude des différentes méthodes proposées, nous nous demandons après tant d'auteurs si le lait n'aura pas trop à souffrir des manœuvres du chauffage, si sa composition n'en sera pas modifiée, s'il ne perdra pas une partie de ses qualités nutritives, en un mot quelle est la valeur alimentaire du lait stérilisé

CHAPITRE II

Stérilisation par la chaleur. — Le lait stérilisé. Sa valeur alimentaire.

Le chauffage du lait, proposé d'abord par les commerçants et industriels soucieux de la conservation de leur marchandise et qui, imbus des théories pasteuriennes, veulent lui appliquer la méthode employée avec tant de succès par Pasteur pour le vin et la bière, fut repris et préconisé plus tard par les médecins et hygiénistes, désireux de donner le lait sous la forme la plus salubre et libre de toute souillure. De moyen commercial de conservation, il s'élève à la dignité d'un procédé hygiénique dont on vante la haute valeur. Mais les innovateurs sont fort mal venus. De tous côtés, au nom de l'expérience, au nom de la clinique, les plaintes s'élèvent et l'on voit surgir contre la nouvelle méthode les protestations indignées des cliniciens. Le lait est un liquide vivant; dit-on, on doit le consommer tel quel. Chauffez-le, ce n'est plus du lait et vous vous éloignez de l'allaitement type, de l'allaitement maternel. L'Académie de médecine apporte à ces plaintes la consécration de son autorité et de sa compétence incontestables et confirme les idées chaudement défendues par Boudet, Broca, Chauffard, Delpech, Devilliers et tant d'autres.

Il était donc intéressant et utile, avant de proposer une méthode de stérilisation par la chaleur, d'être fixé sur les modifications que peut subir le lait au cours du chauffage et de connaître ce qu'il advient de sa valeur alimentaire. Nous examinerons donc d'abord les reproches qui lui ont été faits et en ferons la critique, aidé des témoignages des savants nombreux qui ont étudié la question.

Après les premiers arguments hypothétiques du début, simples vues de l'esprit, ne reposant sur aucune donnée précise et certaine, sont venus les reproches plus sérieux. Il en est de tous ordres. Les premières récriminations, et non les moins ardentes, nous viennent des commerçants et laitiers. Ils objectent le *changement de couleur* subi par le lait. Cette modification, ce brunissement facile à constater, attribué par Duclaux à une transformation de la caséine, par Henseval et Mullie à une action des phosphates sur la caséine sous l'influence de la chaleur, par d'autres encore à une caramélisation de la lactose n'a pas grand inconvénient; l'argument relève plutôt de l'esthétique que de la science.

A peine plus sérieux est le reproche qu'on a fait à la chaleur de *concentrer* le lait et de lui faire perdre une partie de son eau. Le mal n'est pas grand et le remède est si facile, même pour un laitier !

Les consommateurs à leur tour font des objections; ils se plaignent que le chauffage enlève au lait sa belle *opalescence* si flatteuse à l'œil. Or cette opalescence à laquelle on tient si fort ne disparaît guère que vers 110° ou 115° et ces températures sont rarement

atteintes. Est-il nécessaire d'insister plus longuement aussi sur la prétendue *viscosité* du lait après un chauffage à des températures élevées, toujours évitées ?

Mais là s'arrêtent les arguments frivoles. « Débarassez-nous, disent les consommateurs, de ce *goût de cuit* si désagréable et nous acceptons votre méthode. » C'est qu'en effet, sous l'influence du chauffage, du chauffage direct surtout, le lait prend un goût spécial que les palais délicats tiennent pour très fâcheux ; et de fait, certains estomacs difficiles, certains malades susceptibles ne peuvent le supporter. A quelle température le lait prend-il ce goût ? Pour Duclaux c'est vers 75°. Pour Fjord vers 80°. Cette température peut du reste varier suivant le mode et la rapidité du chauffage. La cause ? Elle est mal connue et on a cherché mille explications. Pour Thøerner, ce goût est dû à la disparition de l'acide carbonique. Or l'addition de ce gaz ne le supprime pas ; pour Soeldner et Arthus il faudrait accuser une modification des sels de calcium transformés en phosphates ; pour Johannessen une décomposition des acides non saturés. Quoi qu'il en soit du fait et de l'explication, il n'en reste pas moins acquis que ce goût existe et qu'il faudra autant que possible l'éviter ou l'atténuer.

A ces arguments, les chimistes en ont ajouté une foule d'autres souvent théoriques, de peu d'importance parfois. Sur le terrain de la chimie, le chauffage est accusé de méfaits nombreux. Il priverait le lait de *ses gaz*. Mais rien jusqu'ici n'en a démontré l'utilité et peut-être industriellement serait-il possible d'y remé-

dier par injection d'air stérilisé (Johannessen). Du reste le chauffage en vase clos évite cet écueil. La chaleur produirait paraît-il de *l'hydrogène sulfuré* dont l'odeur est si désagréable. Fort possible, mais on entend si peu de gens s'en plaindre !

La *caséine* elle-même dont, la valeur alimentaire, les différentes transformations ont été si fort discutées aurait fort à souffrir des manœuvres du chauffage. Ses modifications sous l'influence de la chaleur ont du reste été niées par Crolas. En fait, qu'elles existent ou non, elles ne semblent pas avoir grande importance, puisque, d'après Duclaux, la caséine du lait bouilli n'est ni plus ni moins nutritive que celle du lait cru. Au même titre, la *transformation des matières albuminoïdes* du lait prouvée par Freudenreich et Conradi semble n'avoir aucun inconvénient.

Quant au *sucré de lait*, qui du reste ne se modifie que vers 115°, sa disparition et les changements qu'il peut subir sont peu graves. Les *graisses*, de même, seraient sinon détruites, du moins modifiées dans leur état physique. En fait, vers 115°, les globules graisseux surchauffés font éclater leur capsule et au lieu de rester finement émulsionnés dans la masse du liquide, ils forment à la surface des grumeaux très désagréables et fort mal supportés. Mais rappelons que ce phénomène ne se produit que bien au-delà de 100° et qu'une pareille température est rarement proposée.

Insisterons-nous davantage sur les *modifications des phosphates* ? Elles sont bien un peu théoriques

et nous verrons plus loin que la clinique est loin d'avoir justifié les craintes qu'on avait à ce sujet.

Du camp des physiologistes s'élèvent quelques plaintes au sujet des *diastases* qui seraient détruites. Mais leur utilité est-elle bien démontrée ? La bactériologie s'est également émue de la destruction des *antitoxines* du lait. N'est-on pas venu se plaindre également que le lait bouilli contenait des *cadavres de microbes* dont la présence pouvait être fort gênante ? Pour notre part, nous ne nous en formalisons pas et croyons qu'il vaut mieux absorber ces microbes bien et dûment tués, que de s'exposer aux dangers de ces mêmes microbes vivants et indemnes, même avec des antitoxines dont l'efficacité n'est guère prouvée.

En somme, de tous ces arguments, il reste bien peu de chose, et on est bien près de croire que le lait, au cours du chauffage, ne subit pas de modifications bien importantes. C'est l'avis de Duclaux, concluant : « La composition chimique du lait, pendant le chauffage n'est pas sensiblement modifiée. Le lait, bouilli ou stérilisé, est toujours du lait. »

Cependant il manquait à ces affirmations, le sérieux appui de l'expérience. Sur ce point, comme dans toutes les questions pratiques, la clinique reprend ses droits et vient apporter la consécration nécessaire à une solution définitive. Aussi bien, s'aidant des données de l'expérimentation, s'est-elle prononcée nettement en faveur du lait stérilisé. Et pourtant, sur ce terrain même, les discussions n'ont pas manqué. Sous l'influence des idées des chimistes, beaucoup de cliniciens

ont prétendu que le lait stérilisé était mal supporté, *mal digéré*. Les expériences d'Uffelmann, de Leeds et Davis, les observations de Monrad et de Laurent semblaient confirmer cette idée et démontrer que le lait stérilisé se digérait lentement ou incomplètement. Mais sur le terrain expérimental, Michel, dans sa thèse, confirmant les travaux d'Icard, a fait justice de ces attaques. Il a pu démontrer que, dans les recherches antérieures, on s'était placé trop loin des conditions de la digestion normale. Ses digestions artificielles, faites en milieu acide ou alcalin, à l'aide de la pepsine, de la pancréatine, du lab, ou des trois agents combinés ont tourné en faveur du lait stérilisé, plus rapidement transformé. D'où la conclusion « que la stérilisation ne diminue pas, comme on l'a prétendu, la digestibilité des matières albuminoïdes du lait et qu'elle semble au contraire l'augmenter ». Weber expérimentant sur les animaux arrive aux mêmes conclusions, et répondant aux observations de Laurent et de Monrad, d'autres auteurs Czerny et Keller, Wroblewski ont montré qu'elles avaient été prises dans des conditions tout à fait défectueuses, sur des sujets se prêtant fort mal aux recherches et que chez l'homme le lait stérilisé est aussi bien digéré, sinon mieux, que le lait cru. Déjà, en 1891, Drouet et Icard avaient à la tribune de l'Académie de médecine pris la défense du lait bouilli et fait ressortir sa digestibilité parfaite. Stützer et Zweifel après eux donnent la preuve que cette digestibilité n'est pénible que dans les cas où le lait a dépassé la température de 110°.

A quoi donc serait due cette facilité plus grande de la *digestibilité*? A ce fait, d'après Duclaux et Budin, que la caséine du lait stérilisé, sans subir, au cours du chauffage, des transformations importantes, se coagule dans l'estomac en caillots beaucoup plus fins et par suite bien mieux supportés que la caséine du lait cru. Silberschmidt, confirmé par Gautrelet, insiste sur ce fait et prétend que le chauffage, sur ce point, rend le lait de vache assez analogue au lait de femme et au lait d'ânesse.

« Ce qui peut servir d'argument à cette idée, ajoute Duclaux, c'est qu'on a éprouvé le besoin d'étendre d'eau le lait de vache avant de le faire servir à l'alimentation des enfants. Or la dilution a le même effet que le chauffage, elle amène une grande division des grumeaux. »

Mais cette question même de la digestibilité, quelle que soit son importance, s'efface presque devant une autre plus importante : celle de la *valeur alimentaire du lait bouilli ou stérilisé*. Les objections, sur ce point encore, émanent des théoriciens et il fallut des expériences nombreuses et des observations répétées pour venir à bout de leurs attaques.

« L'idéal pour des recherches de ce genre, dit Michel, serait de nourrir comparativement deux jeunes animaux physiologiquement identiques et vivant dans des conditions semblables, l'un avec du lait cru, l'autre avec du lait stérilisé. » C'est ce qu'ont tenté de faire des expérimentateurs nombreux et parmi les premiers Rodet. De jeunes chiens de la même portée reçoivent les uns du lait cru venant

d'une vache reconnue saine, les autres, le même lait stérilisé. La comparaison du rapport de la courbe d'accroissement à la quantité de lait reçue est à l'avantage du lait stérilisé. Du reste ces expériences sont confirmées par Raudnitz et par Weber, expérimentant le premier sur des chiens, l'autre sur des veaux. Bendix ensuite fait des expériences analogues sur des enfants et arrive à des résultats concordants.

Les succès obtenus en clinique par l'alimentation avec le lait stérilisé confirment les données de l'expérimentation. Dès 1891, Vinay fait ressortir les avantages de la méthode de Soxhlet pour l'alimentation des nourrissons, et Uhlig, Maar, qui l'avaient déjà employé comme agent thérapeutique, dans des cas de diarrhée rebelle, n'avaient eu qu'à s'en louer. L'école parisienne avec Pinard, Marfan, Tarnier, Comby, vante les avantages du lait stérilisé; mais c'est surtout Budin qui s'en fait l'ardent défenseur. Dès 1892, il en fait ressortir la digestibilité facile; puis ses observations se multiplient et en face des bons résultats obtenus tant sur la santé des enfants que sur leur accroissement, il préconise l'allaitement au lait stérilisé, soit mixte, soit exclusif. Que le lait soit employé coupé d'eau, ce qui pour certains médecins est préférable jusqu'à l'âge de six à sept mois, ou qu'il soit utilisé pur; qu'on le donne au nouveau-né ou au nourrisson plus âgé, toujours les résultats sont excellents, comparables presque à ceux qu'on obtient par l'allaitement maternel.

Le régime est bien supporté, sans aucun trouble, et la santé est très satisfaisante. Du reste les nom-

breux travaux publiés, les conférences multiples, les thèses inspirées à ses élèves, Chavane, Mauchamp, M^{me} Chaternikoff témoignent tous en faveur du lait stérilisé et abondent dans le même sens.

De tous côtés, les résultats sont concordants. Rothschild à Picpus, Dufour à Fécamp, Magniaux à Rouen, n'ont qu'à se louer de la méthode; Variot, Davis, en Angleterre, Uhlig, Czerny et Keller, Escherich, Heubner, Silberschmidt, en Allemagne, Papapanagiotou, à Athènes, préconisent le lait stérilisé. A Lyon il est employé avec succès dans les crèches et les maternités et M. le professeur Weill, tout en lui préférant l'allaitement maternel, est très satisfait des résultats obtenus. C'est à peine si Clément Dukes, dans *the Lancet*; Neumann et Oppenheimer, en Allemagne, élèvent quelques timides protestations dont on a vite fait justice. En somme, c'est une presque unanimité en faveur du lait stérilisé et on est d'accord aujourd'hui pour admettre avec MM. Duclaux et Budin que le lait stérilisé, bien administré, donne des résultats aussi satisfaisants que possible. Jamais on n'a constaté qu'il pût provoquer par la transformation ou les modifications de ses phosphates les accidents de rachitisme dont on l'accusait; au contraire, le rachitisme est rare dans les maternités où l'on utilise le lait stérilisé, peut-être parce que le régime est sévère et bien observé. Il en est de même de la maladie de Barlow, qui doit sûrement avoir une autre cause puisqu'elle est rare en France, où le lait stérilisé est pourtant fort en honneur.

Or, le lait stérilisé a des indications multiples, et

c'est une ressource précieuse en maintes circonstances. Que l'allaitement maternel soit impossible, qu'il soit insuffisant, on aura recours à l'allaitement artificiel, exclusif ou mixte. De plus, il permet de trancher heureusement des questions délicates. Que faire dans les cas de syphilis héréditaire, quand la mère ne peut nourrir son enfant? Recourir à une nourrice mercenaire, c'est presque un crime; donner du lait cru, c'est la condamnation à mort de l'enfant. Le lait stérilisé permet d'éviter toute chance d'infection et de donner à l'enfant à la fois le traitement qui le guérira et l'aliment qui le sauvera. C'est du reste l'avis de Fournier, de Tarnier, de Vinay, qui ont obtenu avec cette méthode des résultats très heureux.

Autre avantage, il permet de résoudre ou plutôt d'éviter de façon très heureuse le problème de la nourrice mercenaire. Il y a, à Athènes comme ailleurs, écrit M. Papapanagiotou «des mères qui, désireuses de conserver leur beauté qu'elles s'imaginent risquer si elles nourrissaient leurs enfants, et ne se sentant pas assez de force morale pour s'imposer des privations à l'égard des plaisirs du monde, désireuses enfin d'être soulagées autant que possible de la tâche difficile d'une nourrice, ou bien privent prématurément leur nouveau-né de leur propre lait et lui administrent des aliments peu convenables pour son âge, ou bien se paient les services d'une nourrice mercenaire. » Les deux solutions sont mauvaises; il en est une troisième, l'alimentation par le lait stérilisé que nous croyons très satisfaisante.

En somme, le lait stérilisé, sans être une panacée, semble justifier pourtant la bonne réputation qu'on lui avait faite. Tous les avantages que nous avons fait ressortir plus haut sont ceux du lait stérilisé par la méthode de Soxhlet; ils ont été contestés aux autres méthodes de stérilisation. Cependant rien n'est venu justifier ces attaques et nous pouvons conclure que le chauffage du lait n'a pas sur sa composition chimique une action défavorable, et qu'on peut s'attendre avec lui à d'excellents résultats dans l'alimentation journalière.

Quels sont maintenant les modes de stérilisation proposés? Ils sont nombreux, mais Marfan les ramène à quatre types principaux : deux procédés industriels : *stérilisation proprement dite* et *pasteurisation*, deux procédés domestiques : *ébullition* et *chauffage au bain-marie*.

La *stérilisation industrielle* qu'on obtient par un chauffage soit dans une solution saline, soit à la vapeur sous pression qui porte le lait vers 105° ou 110° donne des résultats absolus comme microbicide. C'est le plus grand de ses avantages, mais elle a de légers inconvénients. C'est par ce procédé surtout qu'on a ce *goût de cuit* qui provoque tant de récriminations. Différents procédés, entre autre celui de M. Cazeneuve ont permis, il est vrai, d'atténuer cet inconvénient. Quant aux transformations chimiques des graisses, on a pu voir qu'elles ne se produisaient que vers 115° à 120° et il est inutile d'aller si loin. En somme, comme le dit Marfan, le lait stérilisé à 110° dans de bonnes conditions mérite toute notre confiance.

La *pasteurisation* du lait, par contre, n'a pas donné les beaux résultats de la pasteurisation du vin. Proposée dans le but louable d'éviter le *goût de cuit*, excellente pour la conservation du lait pendant quelques jours, c'est un bon procédé commercial, mais c'est une méthode peu certaine. Sans doute le lait n'est pas altéré, mais il n'est pas sûrement privé de ses germes pathogènes et alors la méthode perd toute sa valeur.

L'*ébullition simple* ou de préférence *prolongée* pendant quelques minutes donne des résultats très satisfaisants à condition que le lait soit consommé de suite. Drouet en est un partisan convaincu.

Quant au *chauffage au bain-marie* c'est à lui que vont tous les suffrages. Nous ne décrirons pas ici tous les appareils qu'on a utilisés. Ils sont trop connus pour qu'on insiste. L'appareil d'Escherich a été vite oublié ou supplanté par l'appareil de Soxhlet proposé dès 1886 et qui a été si souvent imité ou modifié. Cette méthode de stérilisation a été la plus étudiée et c'est elle surtout dont nous avons vanté tous les avantages ; elle a donné des résultats excellents que les expériences de près de 20 ans dans les hôpitaux, les maternités, les crèches n'ont fait que confirmer et elle a été adoptée de plus en plus à cause de son application facile.

Pour le problème spécial qui nous intéresse et dont nous faisons l'objet de notre étude, nous aurons donc le choix entre ces procédés. Nous avons un résultat à obtenir : *la destruction du bacille de Koch* et un petit écueil à éviter, s'il est possible, le *goût de cuit*,

qui est en somme le seul reproche un peu sérieux fait au lait stérilisé. Nous chercherons donc s'il est possible de trouver la solution qui satisfasse à ces deux desiderata et nous nous demanderons d'abord quelle est la température nécessaire pour tuer le bacille de Koch. Sur ce point encore, nous allons le voir, les avis sont très partagés et l'accord est loin d'être fait.

CHAPITRE III

Destruction par la chaleur du bacille de Koch dans le lait.

Les expériences entreprises en vue de rechercher la température qui supprime dans le bacille de Koch la virulence et la végétabilité sont presque aussi anciennes que le bacille lui-même, ou plutôt que sa découverte par Koch; mais, dès le début, on s'aperçut vite que, malgré son apparente simplicité, le problème n'était pas facile à résoudre. Suivant en effet qu'on s'adressait à des cultures ou à des lésions tuberculeuses prélevées sur l'homme ou les animaux, suivant qu'on employait la chaleur sèche ou humide on arrivait à des résultats différents; et la meilleure preuve de ces variations nous est donnée par ce fait, par exemple, que M. Galtier, après avoir affirmé que le virus tuberculeux était détruit à 70°, put avoir ultérieurement des inoculations positives après un chauffage de dix minutes à 71°. Et il fit ressortir très justement à ce sujet l'influence que pouvaient avoir sur les résultats, la qualité et l'état de la matière virulente, la composition et la réaction du milieu. Bitter est certain de l'innocuité des bacilles des crachats après un chauffage à 68° ou à 69°, tandis que Gottstein et Michaelis affirment que dans les graisses le bacille n'est tué que vers 90° et que M^{me} Rabinowitsch,

allant plus loin, soutient que cette température même ne suffit pas. Il n'y a pas lieu de s'étonner dès lors que les expérimentateurs soient arrivés à des résultats si divergents dans des recherches qui furent d'autant plus souvent répétées que la question, de par son importance, demandait une solution rapide.

Sur le point plus spécial et plus restreint de la destruction du bacille de Koch dans le lait, il semblait du moins que l'accord dût se faire plus vite, car le lait, liquide d'une composition à peu près constante, qui devait contenir des bacilles à peu près identiques ou du moins très comparables, devait permettre de détruire en lui le bacille à une température à peu près toujours la même, Or, en l'espèce, les résultats furent tout aussi divergents et la question, très étudiée, comme bien l'on pense, est, aujourd'hui encore, loin d'être tranchée. On s'attacha d'abord à tuer le bacille à des températures peu élevées, aussi basses que possibles, et les premiers résultats viennent confirmer les hypothèses et encourager l'espoir intime des savants, heureux de pouvoir débarrasser le lait de cet hôte dangereux, sans l'exposer aux manœuvres brutales du chauffage.

Dès 1884, Bang, qui depuis a multiplié les recherches à ce sujet, ne peut détruire le bacille à 65°, 70° et même 75° et démontre que ce n'est qu'à partir de 85° qu'on peut avoir la certitude, alors que d'autres expérimentateurs ont été très satisfaits d'un chauffage à 70°. Soxhlet, alors, fait très judicieusement remarquer qu'il doit y avoir des échantillons de lait plus ou moins difficiles à stériliser, que parfois même, il doit

être prudent de dépasser 90° et il propose un chauffage voisin de 100° obtenu, sans grand dommage pour le lait, à l'aide de son appareil.

En 1891, Yersin affirme comme certaine la stérilisation après un chauffage de dix minutes à 70°. A 60° déjà pendant le même temps, on constate une atténuation très notable de la virulence. En Allemagne, ces résultats sont confirmés deux ans après par de Mann qui, moins exigeant, soutient que 65° pendant cinq minutes donnent une certitude. Nous sommes déjà loin de l'idée première de Bang et l'on sent les auteurs de plus en plus soucieux d'épargner au lait un chauffage énergique dont l'innocuité n'est pas encore suffisamment démontrée, et le professeur Sims Woodhead, en 1895, après des expériences nombreuses sur du lait pris à des vaches tuberculeuses, préconise la température de 60° pendant cinq minutes. Le lait peut être encore légèrement infectant pour le cobaye, en injection intra-péritonéale, mais il ne présente aucun danger à l'ingestion et, par conséquent, peut être consommé sans crainte.

Entre temps, Rodet, dès 1893, vient affirmer que la pasteurisation du lait à 75° ou 80° donne des résultats absolument suffisants et qu'on n'a rien à redouter des dangers d'une infection. Oppenheimer, en 1899, arrive aux mêmes conclusions et propose le chauffage à 70° pendant trente minutes. Smith, de Boston, la même année, affirme même n'avoir pu constater un seul cas de virulence du lait après un chauffage de quinze à vingt minutes, à 60°.

En somme, à cette époque, la question paraît jugée ;

malgré quelques petites divergences de détail, il semble qu'on puisse se fier à des résultats à peu près concordants et les industriels, avec espoir d'être bien accueillis, proposent de construire des appareils de pasteurisation qui porteraient le lait à 70° ou 80° sans lui donner le goût de cuit et permettraient ainsi de satisfaire à la fois aux exigences du public et aux prescriptions de l'hygiène.

Mais cet espoir n'eut qu'un temps et un temps bien court ; les craintes reprirent plus intenses et plus légitimes encore quand, en 1900, Beck vint annoncer que les températures proposées n'étaient pas suffisantes et que l'ébullition même ne suffit pas à tuer sûrement le bacille de Koch dans le lait. Déjà M. Galtier avait, quelques mois auparavant, émis quelques doutes sur les expériences anciennes et affirmé qu'un chauffage à 70°, pendant 20 minutes, ne fait qu'atténuer le bacille, mais ne le tue pas. Les conséquences étaient graves. Il fallait, au risque de s'exposer aux dangers d'une infection, modifier du tout au tout les appareils de stérilisation jusqu'ici proposés, et prendre des mesures nouvelles ; encore que Beck, élève de Koch, s'appuyant sur ces expériences, prétendit que la rareté de la tuberculose intestinale, malgré la survie du bacille à l'ébullition, était une preuve de l'innocuité absolue du lait des vaches tuberculeuses.

Mais on n'accepta pas sans contrôle cette assertion ; on fit des recherches nouvelles pour la confirmer ou l'infirmer ; cependant, si nombreuses qu'elles fussent, elles ne tranchèrent pas la question et don-

nèrent des résultats tout à fait discordants. Les uns, sans aller aussi loin que Beck, préconisent des températures voisines de 100° pour avoir une stérilisation satisfaisante (Barthel et Stenstroëm, Tjaden, Koske et Hertel, Delépine, Lévy et Bruns) ; les autres, Bang, Hesse, Kobrack, Marshall, maintiennent que des températures plus basses suffisent. Bang, s'appuyant sur une série d'expériences qui ne sont pas toujours irréprochables, se croit en droit d'affirmer que la température de 70° à 75° pendant quelques minutes est amplement suffisante pour éviter les dangers d'une contagion, surtout par ingestion. Par contre, Galtier, frappé de la divergence des résultats obtenus, obligé de tenir compte des faits positifs, préconise l'ébullition, et Koch, dans un discours prononcé à Berlin, soutient les idées de son élève Beck et affirme que, pour qui redoute la contagion par le lait, l'ébullition ne donne qu'une fausse sécurité.

Au dernier Congrès de Bruxelles, la discussion est reprise ; Russelet Hastings, Ausset et Tournay, Mullie, Schamelhout sont satisfaits des résultats fournis par la température de 70° pendant 5 à 10 minutes. Tjaden, plus exigeant, demande déjà soit 65° pendant 1 à 2 heures, soit 85° pendant 5 minutes, et Leclainche soutient que cette température n'est qu'un minimum. Dans leur rapport, Henseval et Mullie se voient obligés de tenir compte des résultats obtenus par Beck, Morgenroth, Tjaden, Koske et Hertel et proposent soit l'ébullition, soit la méthode de Soxhlet, et, par mesure de prudence, la Commission adopte ces conclusions.

Ces opinions diverses ne tranchent pas le différend, et le public médical n'est pas davantage fixé ; il attend toujours une solution définitive. Peut-être avant de la donner y aurait-il lieu de chercher la cause de ces divergences.

Déjà Bang en 1902 rapportant quelques expériences avait signalé ce fait que l'inconstance des résultats tenait peut-être aux conditions diverses dans lesquelles s'étaient faites les expériences. C'est qu'en effet les causes d'erreur, ou plutôt les causes qui font varier les résultats sont fréquentes. Elles nous ont paru tenir à quatre facteurs principaux : *l'état du lait employé*, *le mode de chauffage*, *les précautions prises pendant le chauffage* et enfin *le procédé employé pour rechercher la vitalité du microbe* après la tentative de stérilisation.

1° *Etat du lait*. — Outre la notion de la *quantité* de lait sur lequel on fait des recherches, et qui peut avoir son importance (Tjaden, Koske et Hertel opérant sur de grandes quantités par des procédés industriels, stérilisent à une température inférieure à celle qui est nécessaire dans les recherches de laboratoire sur 1 ou 2 litres, peut être parce que dans le premier cas les bacilles sont moins nombreux et plus dilués) ; outre cette notion, il faut tenir compte du fait suivant : a-t-on employé pour les expériences du *lait naturellement tuberculeux*, bacillifère à sa sortie du pis ou bien du lait non suspect auquel on ajoute pour les besoins de l'expérience soit des fragments de matière tuberculeuse riche en bacilles, soit des cultures de tuberculose humaine ou bovine ? Il est fort possible que

ce lait rendu artificiellement tuberculeux présente à la stérilisation une résistance différente de l'autre. La richesse en bacilles du lait naturel a sur ce point aussi son importance (Galtier) et nous n'y insisterons pas, car nous avons fait ressortir suffisamment au premier chapitre de ce travail toute la valeur de ce facteur. — En outre, suivant l'état plus ou moins parfait de trituration des cultures ou du caséum introduit artificiellement dans le lait, suivant l'état plus ou moins homogène ou grumeleux du lait, fait sur lequel insistent avec raison Bang, Barthel et Stenstrøm, on conçoit que le bacille protégé par ces *grumeaux* puisse résister longtemps à la chaleur. La tendance à la *coagulation* que Bang a vue si prononcée, que dès le début du chauffage le lait se prenait en masse, doit faire varier les résultats puisqu'en fait le bacille sera mieux protégé. On a fait jouer aussi un grand rôle à la *réaction du liquide* (Barthel et Stenstrøm, Bang, Galtier). Ces auteurs ont remarqué que tous les liquides fortement alcalins présentaient une résistance particulièrement intense à la stérilisation. Or dans certains cas de tuberculose de la mamelle, le lait est très nettement alcalin et on conçoit l'importance de ce facteur sur le résultat des expériences.

2° *Mode de chauffage*. — C'est encore un point sur lequel on a insisté beaucoup et avec raison. Il est certain que le *chauffage au bain-marie* peut donner, à égalité de température, une certitude plus grande, parce qu'il assure mieux que le *chauffage direct* une distribution plus égale de la chaleur et une *moins grande* variation suivant le niveau du liquide.

Le *refroidissement brusque* du liquide chauffé n'est pas sans importance et l'on sait que la chute rapide de la température compromet la vitalité du bacille de Koch et assure, à température égale, une stérilisation plus parfaite (principe de la pasteurisation).

3° *Précautions prises pendant le chauffage.* — *L'agitation* du liquide pendant le chauffage n'est pas sans influence. Sans doute, elle a l'inconvénient de faire adhérer aux parois du vase (et au thermomètre, au cas où on en a plongé un dans le lait à stériliser), une couche mince de liquide qui ne sera pas soumise à la même température dans le cas de chauffage direct, ou dans le cas d'immersion incomplète dans le bain-marie. Mais cet inconvénient évité, elle a l'avantage appréciable d'assurer une égalisation plus parfaite de la chaleur et de rendre plus difficile la coagulation ou la formation d'une pellicule à la surface du liquide. Or cette *pellicule* elle-même, formée de particules graisseuses, de grumeaux, plus ou moins volumineux, contient souvent des bacilles en abondance; ces bacilles seraient, par le fait même, si bien protégés, qu'ils résisteraient à des températures qu'ils ne sauraient supporter au sein même du liquide (Smith, Bang, Henseval et Mullie). Sans doute, on a conseillé de l'enlever au cours d'un chauffage; mais cet écrémage qui enlèverait mécaniquement les bacilles, présente-t-il des garanties suffisantes et peut-on avoir la prétention d'enlever ainsi tous les bacilles à la cuiller et de n'en pas laisser?

De même la formation *d'écume* à la surface du lait (et c'est un des inconvénients de l'agitation) permet-

trait aux bacilles protégés par une couche isolante d'air, de résister aux tentatives de stérilisation (Bang). Enfin, Hesse insiste, peut-être à raison, sur ce fait, que si on ne chauffe pas en vase clos, il se produit un *courant d'air* continu à la surface du liquide, qui refroidit la partie supérieure du lait chauffé et favorise la résistance du bacille à la stérilisation. Bang confirme du reste cette nouvelle hypothèse.

Telles sont les causes qu'on a le plus souvent invoquées pour expliquer la divergence des résultats et dont la plupart ont été fort bien exposées par Bang dans un savant article qu'il publia dans la *Zeitschrift für Thiermedizin* de 1902. Mais nous croyons que ces considérations ne sont pas suffisantes et nous insisterons sur une quatrième catégorie de causes que nous allons maintenant envisager et qui tiennent à la vérification de la stérilisation du lait.

4^e *Vérification de la stérilisation du lait.* — Elle peut se faire en recherchant soit la persistance de la végétabilité du bacille par un ensemencement, soit le maintien de sa *virulence* par expérience sur les animaux. Or, chez l'animal même, on peut procéder soit à l'*inoculation*, soit à l'*ingestion* de produits supposés stériles. L'on sait du reste que l'inoculation a plus de chances de donner des résultats positifs.

En cas d'inoculation, insisterons-nous sur l'influence de la *voie d'introduction* (intraveineuse, intrapéritonéale ou sous-cutanée) et de la *quantité inoculée* qui, dans ces expériences surtout où le bacille est sûrement au moins atténué, auront une importance de premier ordre ? La virulence étant diminuée,

il faudra des bacilles plus nombreux et placés dans de meilleures conditions de développement pour avoir des résultats positifs (V. Arloing). Enfin *le choix de l'animal* pris pour l'expérimentation a son importance, et il est certain que Bang, inoculant *dans le péritoine du lapin* des quantités relativement faibles de son lait, chauffé même à 75°, avait peu de chances d'obtenir des accidents nets.

Nous voyons donc qu'en somme les raisons de cette variabilité des résultats sont nombreuses, et qu'il ne nous est pas difficile d'expliquer ainsi toutes les divergences. Quelle conclusion en tirer ?

A notre avis, c'est que, pour être absolu et arriver à la certitude sinon parfaite, du moins scientifique, il faut mettre les choses au pis, considérer toutes les conditions défavorables tenant soit au lait lui-même, soit aux accidents de chauffage comme fort possibles et lutter contre elles. Sans doute des procédés industriels perfectionnés permettront peut-être d'éviter ces causes d'erreurs, mais dans la pratique journalière ce redoublement de précautions est impossible à obtenir. Nous soutenons que la ménagère ne songera pas à empêcher la formation d'écume ou d'une pellicule, à regarder si son lait contient ou non des grumeaux, s'il est alcalin ou acide. Il faut lui enseigner un procédé pratique, peu coûteux, facile à appliquer et qui puisse lui donner toutes garanties. Le chauffage à 70° ou 80° avec toutes les précautions qu'il exige n'est guère à recommander. Le procédé pratique que nous demandons n'évitera sans doute pas le goût de cuit, le gros argument. Mais si, en définitive,

il s'agissait de choisir entre un lait qui présenterait cette tare, bien légère, il faut le dire, et un lait tuberculeux, y aurait-il une hésitation possible ? C'est à ce point de vue qu'il était intéressant de se demander quelle était la valeur stérilisatrice exacte de l'ébullition, procédé commode que nous avons eu surtout en vue dans nos expériences.

Sans doute, on prétend que le bacille de Koch étant tué, le lait n'est encore pas exempt de tout danger, et un savant italien, Michelazzi, s'appuyant sur des expériences bien conduites, croit pouvoir affirmer que, le bacille mort, persistent dans le liquide des toxines, et que ces toxines, évidemment moins dangereuses que le bacille, si elles ne risquent pas de transmettre la tuberculose ont l'effet très fâcheux d'aggraver les lésions anciennes et d'en favoriser l'évolution fatale ; si bien que, personne n'étant sûr de l'intégrité de son organisme, il y aurait lieu d'écarter complètement ce lait de la consommation. L'effet serait analogue à celui de la tuberculine. Un autre savant italien, Pasquale de Michele, du laboratoire de Maffucci, avait déjà soupçonné le danger.

Nous n'irons pas jusque-là : ces expériences demandent une confirmation. Nous dirons simplement, pour tirer une conclusion de cette analyse, que le chauffage du lait à 75° ou 80°, s'il ne tue pas sûrement tous les bacilles, les atténue sans doute assez pour que, par voie digestive, ils ne puissent infecter un organisme normal, mais ce n'est pas là une certitude suffisante et peut-être serait-il imprudent et coupable en l'espèce de se fier et de s'arrêter à de simples probabilités.

DEUXIÈME PARTIE

Expériences.

Dans nos recherches expérimentales sur la destruction du bacille de Koch dans le lait, nous n'avons eu d'abord en vue qu'un procédé de stérilisation pratique et d'un emploi journalier l'*ébullition simple* ; puis nous avons tenté de l'*ébullition prolongée* au moyen d'un dispositif peu compliqué et d'un emploi courant dans les ménages, le *houille-lait*.

Nos expériences ont porté sur du lait tuberculisé artificiellement à l'aide de bacilles empruntés à des cultures sur milieu solide ou liquide, ou à des lésions naturelles prélevées sur les animaux à l'abattoir. Nous n'avons pas eu la bonne fortune, pour nous rapprocher davantage des conditions pratiques, de trouver du lait naturellement tuberculeux qui, pour fournir des expériences concluantes, devait être riche en bacilles. Il eût fallu pour cela faire une enquête longue et laborieuse, pour laquelle le temps nous a manqué.

L'étude de la stérilisation par l'ébullition nous a montré que l'âge des cultures peut avoir une certaine influence sur les résultats. Nous l'avons étudiée à ce point de vue spécial.

Frappé des résultats obtenus par l'ébullition, nous avons voulu chercher si la méthode de Soxhlet, fort en honneur à l'heure actuelle, pouvait assurer une destruction plus complète du bacille de Koch dans le lait.

Notre exposé comprendra donc plusieurs chapitres.

Le CHAPITRE PREMIER sera l'exposé de nos *expériences préparatoires* et de notre *technique*.

Le CHAPITRE DEUXIÈME donnera les *résultats obtenus selon la température employée*.

Dans le CHAPITRE TROISIÈME, nous essaierons de mettre en lumière *l'influence de l'âge des cultures* sur la résistance à la stérilisation par la chaleur.

Le CHAPITRE QUATRIÈME a trait à la *stérilisation par la méthode de Soxhlet*.

CHAPITRE PREMIER

§ I. *Expériences préliminaires.*

Dans la première partie de nos expériences, nous avons voulu nous rapprocher, autant que possible, des conditions pratiques réalisées dans les ménages et nous avons opéré sur la quantité de lait le plus fréquemment employée (un litre à un litre et demi). Mais pour donner à cette masse de lait une richesse en bacilles qui pût se prêter à une récolte des bacilles et à des expériences d'inoculation et de culture, il aurait fallu ajouter une trop grande quantité de microbes. De plus, si la dilution était faible, il eût fallu pour rassembler les bacilles, procéder à une centrifugation qui eût été très longue et pénible. Il nous a paru plus simple de faire une dilution de bacilles dans la quantité de lait strictement nécessaire aux ensemencements et inoculations ultérieures et de plonger le tube contenant ce mélange, dans un bain-marie de lait représentant la quantité normalement employée. Restait à savoir si, par ce procédé, l'effet de la chaleur n'était pas modifié. C'est ce que nous ont montré nos expériences préliminaires.

Les thermomètres dont nous nous sommes servis dans ces recherches ont été préalablement éprouvés par nous. Nous en avons utilisé trois qui nous ont donné dans l'eau distillée bouillante et sous une pres-

sion de 757, des températures qui de l'un à l'autre ont varié entre 99° et 99°2.

Ce point connu, nous avons étudié la marche de la température dans les différentes parties du liquide, pendant le chauffage. Le bec Bunsen se trouvant placé sous la marmite qui servait aux expériences, nous n'avons pas observé de variation de température suivant qu'on s'est plus ou moins éloigné des bords, à condition toutefois que le thermomètre ne touche pas la paroi du vase. Mais, suivant les différentes hauteurs, nous avons remarqué, fait très connu, que la température au début montait plus vite à la partie supérieure du liquide et moins vite à la partie inférieure qu'à la partie moyenne. Cependant l'écart, qui vers 30° à 40° est de près de 10° se comble vite et à partir de 55° à 60° les trois thermomètres marquent sensiblement la même température.

Nous avons étudié ensuite la courbe comparative de la température du liquide chauffé dans le vase et d'un liquide contenu dans un tube et plongé dans le premier, et, employant dans le bain-marie ou dans le tube immergé soit de l'eau distillée, soit du lait, soit du bouillon de culture dont les températures d'ébullition sont à peu près identiques, nous avons observé les faits suivants :

1° Dans le tube mis au bain marie la température au début monte moins vite que dans le liquide qui l'environne au même niveau; mais la différence de température, très sensible au début du chauffage, diminue de plus en plus et aux environs de l'ébullition elle n'est plus que de 1° au maximum.

2° Cette courbe de la température dans le tube est soumise quant au niveau auquel le tube est plongé aux mêmes variations que dans le liquide du bain-marie ; la température d'abord plus élevée dans le tube placé à la partie supérieure se laisse rejoindre par l'autre dès 60°.

3° Si on cesse de chauffer au moment de l'ébullition, la température du liquide du bain-marie baisse immédiatement ; dans le tube immergé, la température continue à monter pendant 1 minute environ jusqu'à atteindre à 0°2 près la température maxima obtenue dans le bain-marie ; elle baisse ensuite.

4° Si on prolonge l'ébullition, la température du liquide du bain-marie restant constante, le thermomètre placé dans le tube continue à monter, et en moins d'une minute il atteint le même niveau que celui qu'indique le thermomètre placé dans le bain-marie, puis reste à son tour constant.

5° Pendant le refroidissement, la température commence à baisser d'abord dans le bain-marie, puis dans le liquide immergé dans la partie supérieure et enfin dans le liquide plongé dans la partie profonde ; mais ces trois phénomènes se suivent à une minute d'intervalle à peine. La différence qui est au début de un demi degré au maximum est vite comblée et les courbes de refroidissement sont ensuite exactement superposables.

Ces expériences préalables ont été faites avec beaucoup de soin surtout celles qui concernent l'emploi simultané du lait dans le bain-marie et dans le tube immergé. Elles nous autorisaient donc à employer le

procédé indiqué plus haut, sans crainte de s'exposer à des causes d'erreur appréciables. Le lait placé au bain-marie subissait, à peu de chose près, les mêmes influences caloriques que s'il avait été directement chauffé.

§ 2. *Technique des expériences.*

Le lait employé dans nos expériences est du lait du commerce que nous achetions au fur et à mesure des besoins, au premier laitier venu. Nous n'avons pas cherché à être fixé sur sa *réaction*, mais nous n'avons jamais vu ni qu'il fit des grumeaux pendant le chauffage, ni qu'il se coagulât. Au cours du chauffage nous n'avons cherché ni à agiter dans le bain-marie, ni à éviter la formation d'*écume* ou d'une *pellicule* à la surface. Ce sont des précautions qu'on ne prend pas dans la pratique journalière et c'est à ce point de vue que nous nous plaçons.

Voici la façon dont nous opérions : Le lait qui devait recevoir les bacilles était stérilisé d'avance comme si on l'avait préparé pour cultiver l'*Eberth* ou le *coli* (110°-115°). Les bacilles tuberculeux prélevés sur des cultures solides (pomme de terre glycinée) sont triturés soigneusement dans un mortier bien flambé et réduits en une pâte bien homogène, puis mélangés au lait à la dose de un pour cinquante environ (des pesées préalables nous avaient permis de nous renseigner à ce sujet). Pour les bacilles pris dans des lésions tuberculeuses de vaches, la tritu-

ration du caséum employé était aussi soigneusement faite, le mélange établi à forte dose, puis le tout passé à travers un linge fin stérilisé, pour éviter les grumeaux. Les cultures liquides (cultures homogènes) étaient chauffées telles quelles dans le tube immergé sans être mélangées au lait. Le mélange fait, on l'introduit dans un tube stérilisé à l'aide d'une pipette, en évitant que le liquide ne vint souiller les parois du tube au-dessus de la partie qui devait être occupée par lui. Puis on bouche au coton et on plonge le tout au milieu du liquide suffisamment pour que le tube, sans toucher le fond du vase, ait la partie supérieure de son contenu, inférieur de un centimètre environ au niveau du liquide du bain-marie (à cause de l'évaporation pendant le chauffage). La quantité du lait du bain-marie est de un litre à un litre et demi environ.

Puis on chauffe le tout jusqu'à l'ébullition (nous considérons comme ébullition non pas le simple soulèvement de la croûte du lait, mais ce fait que le lait donne sous la croûte rompue de gros bouillons). Cette ébullition demande un temps qui, suivant les expériences, varie de neuf à douze minutes. C'est du reste le temps pris ordinairement dans les ménages. La source de chaleur est alors retirée et on laisse refroidir jusqu'à 45° environ, température à laquelle on retire les tubes. Ce refroidissement demande une heure en moyenne.

Même procédé quand on veut atteindre 70°, 80° ou 90° seulement. Si on veut obtenir l'ébullition prolongée, arrivé à 95°, on baisse un peu la flamme pour

ne pas avoir une ébullition trop tumultueuse que le couvercle du bouille-lait lui-même ne saurait maintenir; on continue l'ébullition un temps plus ou moins long, puis on laisse refroidir.

Le refroidissement opéré, reste la vérification de la stérilisation. Dans toutes nos expériences d'ébullition simple ou de chauffage à 70°, 80° ou 90°, sauf pour les cas où nous employons des bacilles provenant de lésions naturelles, nous avons fait *l'ensemencement* du fond du tube sur milieu identique à celui d'où provenait la culture elle-même. L'ensemencement n'a pas été fait pour les cas où l'ébullition a été prolongée.

Quant à *l'inoculation*, voici comment nous avons procédé :

Dans la plupart des expériences d'ébullition simple et dans tous les cas de chauffage à des températures inférieures à 100°, inoculation sous-cutanée de 2 cc. du mélange à 1/50 de lait et de bacilles sous la peau de deux lapins, de 1 cc. au cobaye. Pour les autres, même voie d'introduction, mais le cobaye seul est employé, car le lapin ne donne pas de résultats positifs. Enfin, dans les cas d'ébullition prolongée, on emploie exclusivement le cobaye, mais trois animaux reçoivent 2 cc. du mélange à 1/50 dans le péritoine et deux la même quantité, sous la peau.

Dans les cas où nous avons utilisé les bacilles provenant de lésions naturelles, l'inoculation des bacilles non chauffés à des animaux témoins nous a montré, dans tous les cas, leur virulence très nette.

Enfin, dans le choix des cultures, nous avons employé tantôt les cultures de tuberculose bovine, tantôt

les cultures de tuberculose humaine, mais les premières de préférence.

Les animaux qui survivaient après un mois et demi d'inoculation, étaient sacrifiés. Nous allons voir maintenant les résultats des expériences.

CHAPITRE II

Expériences classées suivant la température du chauffage.

I. — ÉBULLITION SIMPLE

Elles comprennent les expériences 1 à 10 et 22 à 26 faites avec des bacilles provenant de cultures sur pomme de terre glycérinée.

Dilution à 1/50. Inoculation (1 à 10) à deux lapins et 2 cobayes, (22 à 26) à 2 cobayes, par voie sous-cutanée ; ensemencement sur pomme de terre glycérinée.

En second lieu, les expériences 16 à 19, faites avec des bacilles provenant de lésions naturelles de pomme-rière (dilution riche ; inoculation sous-cutanée à deux cobayes) ; et, enfin, les expériences 19 à 22 faites en chauffant au bain-marie des cultures liquides homogènes. Ensemencement en bouillon glycérimé. Inoculation sous-cutanée à 2 cobayes.

En voici les résultats :

Bacilles provenant de cultures sur milieu solide.

EXPÉRIENCE 1. — Tuberculose humaine 1, (bacilles venant de crachats) de 4 mois.

Ebullition en 9' 45". Refroidissement à 50° en 50'.

Culture positive après deux mois. Inoculation négative chez les lapins. Les cobayes présentent tous deux des *lésions tuberculeuses très atténuées*.

Exp. 2. — Tub. humaine 2, de 8 mois.

Ebull. en 9'30". Refr. à 50° en 55'.

Culture stérile. Rien de net chez les animaux inoculés.

Exp. 3. — Tub. humaine 3, de 4 mois.

Ebull. en 10'. Refr. à 50° en 55'.

Culture stérile. Rien chez les lapins. *Tub. ganglionnaire chez les cobayes qui présentent tous deux de petits tubercules aux poudrons.*

Exp. 4. — Tub. humaine 4, de 2 mois.

Ebull. en 9'. Refr. à 50° en 52'.

Culture positive. Rien chez les lapins. *Tub. chez les cobayes dont l'un présente un tubercule de la rate.*

(N. B. — Cette tuberc. même non chauffée donne toujours des lésions très légères.)

Exp. 5. — Tub. humaine 5, de 9 mois 1/2. Mêmes conditions qu'exp. 9.

Culture stérile. Rien chez les lapins. Chez les cobayes, rien de net; légère hypertrophie de la rate.

Exp. 6. — Tub. bovine 1, de 5 mois. Mêmes conditions.

Culture stérile. Rien chez les lapins. Les cobayes sont gras mais présentent *des lésions nettes (tubercules de la rate).*

Exp. 7. — Tub. humaine 6, de 14 mois 1/2.

Ebull. en 10'. Refr. à 50° en 1 heure.

Culture positive. Rien chez les lapins. Chez les cobayes rien de net sauf une hypertrophie de la rate.

Exp. 8. — Tub. équine 2, de 13 mois. Mêmes conditions.

Culture positive. — Rien chez les lapins. — Légère hypertrophie de la rate chez les cobayes.

Exp. 9. — Tub. équine 1, de 13 mois. Mêmes conditions.

Culture stérile. Rien chez les lapins. Rien de net chez les cobayes.

EXP. 22. — Tub. bovine 2, de 15 mois.

Ebull. en 11'. Refr. à 50° en 1 heure.

Culture stérile. Rien chez les cobayes.

EXP. 23. — Tub. humaine 6, de 2 mois.

Ebull. en 10'30. Refr. à 50° en 1 heure.

Culture : moisissure. Rien de net chez les cobayes, quelques ganglions.

EXP. 24. — Tub. bovine 1, de 35 jours. Mêmes conditions.

Culture stérile. Rien à l'inoculation.

EXP. 25. — Tub. bovine 2, de 2 mois.

Culture stérile. Petits ganglions lombaires chez un des cobayes.

2° Bacilles provenant de lésions naturelles (pommelière)

EXP. 16. Caséum pulmonaire (pommelière 1).

Ebull. en 11'. Refr. à 50° en 1 heure.

Inoculation négative.

EXP. 17. — Tubercules du foie et du poumon (pommelière 2). Mêmes conditions.

Inoculation négative.

EXP. 18. — Ganglions caséux (pommelière 3).

Ebull. en 10'. Refr. à 50° en 1 h.

Inoculation négative.

3° Bacilles provenant de cultures liquides homogènes.

EXP. 19. — Tub. humaine A. de 40 jours.

Ebull. en 9'30. Refr. à 50° en 1 h. Culture et inoculation négatives.

EXP. 20. — Tub. bovine K. de 28 jours. Mêmes conditions.

Culture et inoculation négatives.

EXP. 21. — Tub. H. de 44 jours.
Ebull. en 11'. Refr. à 50° en 1 h.
Culture et inoculation négatives.

II. — TEMPÉRATURES INFÉRIEURES A L'ÉBULLITION

Elles comprennent les expériences 10 et 11 (90°), 12 et 13 (80°), 14 et 15 (70°) faites avec des bacilles provenant de cultures de tuberculose bovine sur pomme de terre glycinée. Dilution à 1/50 dans du lait stérilisé. Ensemencement sur pomme de terre. Inoculation sous-cutanée (2 cc.) à 2 lapins et (1 cc.) à 2 cobayes.

EXP. 10. — Tub. bovine 1, de 6 mois 1/2.

Ebull. 90° en 8' 45". Refr. à 50° en 50'.

Culture stérile. Rien chez les lapins. Quelques ganglions chez les cobayes. Grosse rate chez l'un d'eux.

EXP. 11. — Tub. bovine 2, de 1 mois 1/2. Mêmes conditions.

Culture : moisissure. Petits ganglions lombaires chez les cobayes.

EXP. 12. — Tub. bovine 1, de 6 mois 1/2.

80° en 7' 30". Refr. à 50° en 45'.

Culture : moisissure. Rien chez les lapins. Petits ganglions lombaires chez les cobayes.

EXP. 13. — Tub. bovine 2, de 13 mois. Mêmes conditions.

Culture stérile. Rien chez les lapins ni les cobayes.

EXP. 14. — Tub. bovine 1, de 6 mois 1/2.

70° en 5' 30". Refr. à 50° en 42'.

Culture *positive*. Rien chez les lapins ni les cobayes.

Exp. 15. — Tub. bovine 2, de 13 mois. Mêmes conditions.

Culture : moisissure. Rien chez les lapins ni chez les cobayes.

III. — EBULLITION PROLONGÉE.

Expériences 26 à 35 faites avec des bacilles provenant des cultures de tuberculose bovine sur pomme de terre glycinée. Dilution à 1/50 dans le lait. Pas d'ensemencement. Inoculation à 5 cobayes par expérience, 3 dans le péritoine, 2 sous la peau ; 2 cc. chacun.

Exp. 26. — Tub. bovine 1, de 4 mois 1/2.

Ebull. en 14' *prolongée 1 minute*. Ref. à 50° en 1h. 10'.

Rien de net chez les cobayes.

Exp. 27. — Tub. bovine 3, de 1 mois 1/2. Mêmes conditions.

Quelques lésions mais peu nettes par inoculation intrapéritonéale.

Exp. 28. — Tub. bovine 2, de 2 mois 1/2. Mêmes conditions.

Quelques lésions, mais peu nettes par inoculation intrapéritonéale (un des cobayes meurt le lendemain de l'inoculation et présente à l'autopsie une tuberc. généralisée ; poumons, foie, rate farcis de tubercules. On ne peut retrouver la cause de cette inoculation accidentelle).

Exp. 29. — Tub. bovine 1, de 2 mois.

Ebull. en 13° *prolongée 2 minutes*. Ref. à 50° en 1 h. 15.

Rien par inoculation dans le péritoine. Un des cobayes inoculé sous la peau présente un *petit ganglion lombaire tuméfié et rouge avec bacilles*.

EXP. 30. — Tub. bovine 3, de 1 mois. Mêmes conditions.

Un des cobayes inoculé dans le péritoine présente *une masse caséuse épiploïque et des ganglions mésentériques avec bacilles.*

EXP. 31. — Tub. bovine 2, solide de 2 mois 1/2. Mêmes conditions.

Un des cobayes meurt d'infection. Trois autres n'ont rien. Le cinquième présente *une péritonite tuberc. généralisée avec tubercules de la rate et du poulmon.* Rien au foie.

EXP. 32. — Tub. bovine 1, de 1 mois 1/2.

Ebull. en 13' *prolongée 5 minutes.* Ref. à 50° en 1 h. 10'

Un des cobayes présente *une péritonite tuberc. généralisée et des tubercules du foie.* Rien de net chez les autres.

EXP. 33. — Tub. bovine 3, de 1 mois. Mêmes conditions.

Un des cobayes (péritoine) présente *un nodule caséux de l'épiploon gastro-hépatique avec bacilles en abondance. Tubercules du foie.* Quelques lésions discrètes chez les autres cobayes.

EXP. 34. — Tub. boviné 2, de 1 mois. Mêmes conditions.

Résultats négatifs.

En résumé, le chauffage à 100° a donné les résultats suivants :

Sur 13 expériences faites *avec bacilles provenant de cultures sur milieu solide six résultats positifs, deux douteux* (exp. 23 et 35) *et cinq négatifs.*

Les expériences faites *avec bacilles provenant de cultures en milieu liquide; et de lésions naturelles sont toutes négatives.*

Le chauffage à 90° donne (bacilles empruntés à des cultures sur pommes de terre) *deux résultats douteux*, à 80° *un douteux*, *un négatif*, à 70° *un négatif et un positif*.

Ces résultats peuvent paraître surprenants, cependant nous pouvons les rapprocher des résultats obtenus par Arloing, Cornevin et Thomas dans leur étude *sur le charbon symptomatique*. Ces auteurs ont constaté, en effet, que la bactérie charbonneuse, vers 70°, s'atténueait, mais que si l'on prolongeait le chauffage à des températures plus élevées, au lieu de voir la virulence s'éteindre complètement, la bactérie reprenait une partie de sa virulence perdue.

L'explication de ce fait est difficile. On pourrait par exemple admettre qu'il existe soit dans les cultures elles-mêmes, soit plutôt dans le lait non suspect (puisque tel était le cas de nos expériences), des substances qui arrêteraient dans une certaine mesure la végétation et atténueraient la virulence du bacille de Koch ; ces substances perdraient, par la chaleur, une partie de leur action qui diminuerait au fur et à mesure que la température s'élève et finirait par être annulée complètement. Mais ce n'est là qu'une hypothèse, qui demanderait à s'appuyer sur des expériences plus nombreuses et plus précises.

Notons que ces substances auraient dû être détruites dans le lait employé pour nos solutions, qui avait été préalablement stérilisé à 110° ou 115°. Se seraient-elles reformées du fait de l'introduction du virus tuberculeux, ou seraient-elles inhérentes au bacille ?

Enfin, l'ébullition prolongée du lait souillé avec

des cultures sur milieu solide, a donné *après prolongation de une minute, deux résultats douteux et un négatif; après deux minutes, trois résultats positifs; après cinq minutes, deux résultats positifs et un négatif*. Ajoutons que dans cette série d'expériences l'influence de la voie d'introduction a été nette; l'inoculation péritonéale donne plus de certitude. Disons aussi que le lapin ne nous semble pas être suffisamment sensible, du moins par voie sous-cutanée, pour se prêter à des expériences très précises.

Nous concluons donc de cette série d'expériences, que, du fait de la chaleur, le bacille de Koch dans le lait est atténué et perd une partie de ses propriétés végétatives et virulentes; (notons que tous les animaux inoculés dans une même expérience ne présentent pas de lésions) mais qu'il persiste encore, même après une ébullition de cinq minutes, quelques éléments microbiens capables d'infecter le cobaye.

Cette atténuation est-elle suffisante pour que ces bacilles puissent impunément être ingérés et peut-on affirmer que les quelques individus qui persistent avec leur vitalité seront incapables d'être le point de départ d'une infection alimentaire? C'est une question sur laquelle il est plus difficile de se prononcer et qu'il serait peut-être imprudent de trancher par l'affirmative.

CHAPITRE III

Influence de l'âge des cultures sur la résistance du bacille de Koch à la chaleur.

Au cours des expériences précédemment exposées, nous avons remarqué, en analysant d'un peu près les facteurs qui ont pu faire varier les résultats, que l'âge des cultures auxquelles sont empruntées les bacilles pour nos recherches de stérilisation n'étaient pas sans influence sur la résistance du bacille à l'agent destructeur ; aussi avons-nous jugé utile, pour plus de clarté, d'exposer dans un chapitre spécial les résultats envisagés à ce point du vue et de faire ressortir toute l'importance de ce facteur.

Bien entendu nous ne pouvons considérer ici que les expériences faites avec des cultures sur milieu solide puisque ce sont les seules qui donnent des résultats positifs.

La limite exacte à partir de laquelle les cultures sont, sinon atteintes dans leur virulence, du moins modifiées dans leur résistance à la chaleur n'est pas nettement déterminée ; mais, pour la commodité de l'exposition, nous diviserons les expériences en deux catégories : dans une première catégorie nous examinerons les résultats obtenus avec des cultures sur pomme de terre, âgées de moins de six mois ; dans une deuxième classe, nous ferons rentrer celle dont l'ensemencement remonte à une date plus éloignée.

1° Cultures âgées de moins de six mois.

EXPÉRIENCE 1. — Tub. hum. 1, 4 mois. *Culture et Inoculation positives.*

EXP. 3. — Tub. hum. 3, 4 mois. *Inoculation positive.*

EXP. 4. — Tub. hum. 4, 2 mois. *Culture et Inoculation positives.*

EXP. 6. — Tub. bovine 1, 5 mois. *Inoculation positive.*

EXP. 11. — Tub. bovine 2, 1 mois 1/2. Résultats douteux.

EXP. 23. — Tub. hum. 6, 2 mois. Résultats douteux.

EXP. 24. — Tub. hum. 7, 35 jours. Négative.

EXP. 25. — Tub. bovine 2, 2 mois. Résultats douteux.

EXP. 26. — Tub. bovine 1, 4 mois 1/2. Inoculation négative.

EXP. 27. — Tub. bovine 3, 1 mois 1/2. Résultats douteux.

EXP. 28. — Tub. bovine 2, 2 mois 1/2. Résultats douteux.

EXP. 29. — Tub. bovine 1, 2 mois. *Inoculation positive.*

EXP. 30. — Tub. bovine 3, 1 mois 1/2. *Inoculation positive.*

EXP. 31. — Tub. bovine 2, 2 mois 1/2. *Inoculation positive.*

EXP. 32. — Tub. bovine 1, 1 mois 1/2. *Résultats positifs.*

EXP. 33. — Tub. bovine 3, 1 mois 1/2. *Résultats positifs.*

EXP. 34. — Tub. bovine 2, 1 mois. Résultats négatifs.

2° Cultures âgées de plus de six mois.

EXP. 2. — Tub. hum. 2, 8 mois. Résultats négatifs.

EXP. 5. — Tub. hum. 5, 9 mois 1/2. Résultats négatifs.

EXP. 7. — Tub. hum. 6, 14 mois 1/2. *Culture positive.* Inoculation négative.

- EXP. 8. — Tub. équine 2, 13 mois. *Mêmes résultats.*
- EXP. 9. — Tub. équine 1, 13 mois. Résultats négatifs.
- EXP. 10. — Tub. bovine 1, 5 mois 1/2. Résultats douteux.
- EXP. 12. — Tub. bovine 1, 5 mois 1/2. Résultats douteux.
- EXP. 13. — Tub. bovine 2, 13 mois. Résultats négatifs.
- EXP. 14. — Tub. bovine 1, 6 mois 1/2. *Culture positive.* Inoculation négative.
- EXP. 15. — Tub. bovine 2, 13 mois. Résultats négatifs.
- EXP. 22. Tub. bovine 2, 15 mois. Résultats négatifs.

En résumé, sur 17 expériences faites avec des cultures âgées de moins de 6 mois, on a 9 *résultats positifs*, 5 *douteux* et 3 *négatifs*.

Sur 11 expériences faites avec des cultures âgées de plus de 6 mois, on a par contre 6 *résultats négatifs*, 2 *douteux* et 3 *positifs*. Les 2 résultats douteux sont donnés par des cultures âgées de 6 mois 1/2.

CHAPITRE IV

Application de la méthode de Soxhlet à la destruction du bacille de Koch dans le lait.

La constatation des résultats obtenus dans les expériences précédemment exposées nous a amené à étudier la valeur de la méthode de Soxhlet comme procédé de destruction du bacille de Koch dans le lait ; nous nous sommes demandé si cette méthode, qui s'est acquis ces dernières années les suffrages presque unanimes, présentait les garanties nécessaires au point de vue de la prophylaxie de la tuberculose.

M. le professeur Weill a bien voulu mettre à notre disposition les appareils du système Soxhlet employés dans son service hospitalier pour la stérilisation du lait des nourrissons ; nous avons pu nous rapprocher ainsi autant que possible des conditions pratiques. Cependant, cette fois encore, le lait artificiellement tuberculisé a été notre seule ressource et nous avons employé des bacilles empruntés soit à des cultures sur pomme de terre, soit à des cultures en bouillon.

Trois échantillons de tuberculose sur milieu solide ont été mélangés chacun, à la dose de 1 gr. environ, à 50 cc. du même lait qui doit être distribué après stérilisation aux nourrissons de la crèche. Les bacilles, comme précédemment, ont été triturés soigneusement, réduits en une pâte qui a été délayée ensuite dans le

lait. Une partie de ce lait est distraite pour être injectée à la dose de 2 cc. par animal dans le péritoine de deux cobayes qui serviront d'animaux témoins. Le reste, placé dans les flacons qui servent d'ordinaire à la traite du lait est soumis aux manœuvres habituelles du soxhletage dans le service même de M. Weill où la stérilisation est faite par le personnel ordinaire. L'eau du bain-marie est portée à l'ébullition, maintenue à cette température pendant 45 minutes, puis on laisse refroidir. Après refroidissement, le lait est réduit au quart de son volume environ par centrifugation et décantation et les 10 cc. du fond sont inoculés à la dose de 3 cc. par animal dans le péritoine de 3 cobayes par expérience.

Pour les essais de stérilisation de tuberculose en milieu liquide, on fait un mélange par parties égales de lait et de bouillon de culture. On traite de la même façon, avec cette seule différence que l'inoculation est faite non pas dans le péritoine du cobaye, mais dans la veine marginale de l'oreille du lapin, à la dose de 3 cc. également. Deux animaux témoins reçoivent 2 cc. du mélange non chauffé.

Nous avons voulu nous renseigner sur la marche de la température dans les flacons de lait traités par la méthode de Soxhlet. M. le professeur Weill, qui a fait des recherches à ce sujet, a pu nous donner des détails précis. Pendant toute la durée de l'ébullition (45 minutes) la température du lait se maintient aux environs de 98°, ce qui est très près du point d'ébullition du lait.

A la suite des inoculations, 5 cobayes sur 15 meurent dans les 8 jours, d'infection ; 1 seul lapin sur 10. Les autres survivent et sont sacrifiés, les cobayes 28 jours, les lapins 26 jours après l'inoculation.

Nous allons donner maintenant des résultats des autopsies.

**1^o Cobayes inoculés avec des bacilles provenant de cultures
sur pomme de terre.**

EXPÉRIENCE 35. — Tub. humaine 8, de 5 mois.

Cobaye 1. Amaigrissement léger. Lésions généralisées ; tubercules de l'épiploon, du mésentère, du péritoine diaphragmatique. Petits tubercules de la rate. Ganglions mésentériques et trachéobronchiques. Rien au poumon ni au foie.

Cob. 2. L'animal a pris 50 grammes. Pourtant il présente des lésions nettes, identiques aux précédentes ; de plus, petit tubercule pulmonaire.

Cob. 3. Léger amaigrissement. Mêmes lésions de l'épiploon, du mésentère et du péritoine diaphragmatique. Grosse rate avec deux petits tubercules. Lésions ganglionnaires (mésentériques et trachéobronchiques). Rien au poumon. Foie un peu pâle.

Un des cobayes témoins est mort d'infection au 6^e jour. L'autre présente une tuberculose énorme (péritoine, rate, ganglions) beaucoup plus marquée que chez les animaux précédents. Rien au poumon. Peu d'amaigrissement.

EXP. 36. — Tub. bovine 1, 3 mois.

Cobaye 1. Mort d'infection au 7^e jour.

Cob. 2. Léger amaigrissement. Tubercules de l'épiploon, du mésentère, du péritoine diaphragmatique, de la rate. Ganglions mésentériques et trachéobronchiques. Rien au poumon, rien au foie.

Cob. 3. Amaigrissement plus notable. Mêmes lésions avec en plus un petit tubercule pulmonaire.

Les deux cobayes témoins sont morts d'infection.

Exp. 37. — Tub. bovine 2, 4 mois.

Cobaye 1. L'animal a perdu $\frac{1}{5}$ de son poids. Là encore lésions tuberculeuses nettes (épiploon, mésentère, péritoine diaphragmatique). Grosse rate avec tubercules. Lésions ganglionnaires. Rien au poumon. Rien au foie.

Cob. 2. Amaigrissement notable. Lésions absolument identiques aux précédentes. Rien aux poumons. Foie un peu pâle.

Cob. 3. Amaigrissement. Petits tubercules de l'épiploon du mésentère, du péritoine diaphragmatique. Grosse rate avec plusieurs tubercules. Ganglions mésentériques et trachéobronchiques. Petits tubercules pulmonaires. Rien au foie.

Un des cobayes témoins meurt d'infection ; l'autre présente une tuberculose énorme avec des lésions du même genre que les précédentes, mais beaucoup plus nettes. Tubercules pulmonaires. Foie un peu gras.

2° Lapins inoculés avec des bacilles provenant de cultures en bouillon.

Exp. 38. — Tub. humaine A. (homogène), de 2 mois $\frac{1}{2}$.

Lapin 1. Mort d'infection après 4 jours.

Lapin 2. Léger amaigrissement. Rate un peu hypertrophiée, un petit tubercule pulmonaire.

Lapin 3. Rien à noter sauf un amaigrissement léger et un peu d'hypertrophie de la rate.

Les deux lapins témoins ne présentent comme lésions typiques qu'un tubercule pulmonaire chez l'un d'eux. Cependant les deux animaux sont très amaigris et chez l'un et l'autre la rate est gonflée, turgescence ; le foie est en voie de dégénérescence graisseuse.

EXP. 39. — Tub. humaine H. (homogène) de 2 mois 1/2.

On ne relève rien ni chez les animaux témoins, ni chez les autres. Tous les lapins ont pris du poids.

Le résultat des premières expériences est très probant. Les bacilles provenant de cultures sur milieu solide ont résisté à la soxhlétisation et ont pu donner, inoculés à dose très forte il faut le dire, des lésions nettes, mais beaucoup moins intenses que celles qu'ont produites les bacilles non soumis à l'action de la chaleur. Il est possible que beaucoup de bacilles soient tués, mais il en subsiste assez pour que le cobaye puisse être très nettement infecté.

La deuxième série d'expériences est moins nette. Les bacilles non chauffés ont donné peu de chose chez les animaux témoins. Cependant il faut noter qu'un des lapins inoculés avec du lait soxhletisé présentait un tubercule pulmonaire. L'expérience 39 ne peut donner aucun renseignement sur la valeur de la méthode de Soxhlet ; elle prouve seulement que la virulence des cultures de bacilles de Koch est très variable.

En résumé, la méthode de Soxhlet semble moins efficace que l'ébullition, pour la destruction du bacille de Koch dans le lait.

CONCLUSIONS

- I. La transmission de la tuberculose bovine à l'homme étant à l'heure actuelle incontestable et cette transmission ayant pour facteur principal le lait de vaches tuberculeuses, il y a lieu de prendre des mesures pour l'éviter.
- II. Le meilleur moyen, le plus pratique, nous paraît être la stérilisation du lait, suspect ou non, et le meilleur agent de stérilisation du lait est la chaleur.
- III. La chaleur n'altère pas les qualités nutritives du lait qui, même après un chauffage à 110°, n'a rien perdu de sa valeur alimentaire et peut être employé avec avantages. L'expérimentation et la clinique sont d'accord sur ce point.
- IV. Il semble que la température nécessaire et suffisante pour tuer le bacille de Koch dans le lait soit difficile à déterminer, si l'on en juge par les divergences des auteurs.

- V. D'après nos recherches, qui ont porté sur du lait artificiellement tuberculeux, l'ébullition du lait atténue la virulence et la végétabilité de tous les bacilles de Koch contenus dans le lait. Cependant, même prolongée 5 minutes, elle peut laisser subsister encore chez quelques bacilles une partie de ces deux propriétés.
- VI. Les effets destructeurs de la chaleur sont subordonnés dans une certaine mesure à la virulence, à la résistance fort variables du bacille de la tuberculose; mais, d'après nos recherches, les bacilles venus de cultures âgées sur pomme de terre glycinée, de cultures en milieu liquide (homogènes), ou les bacilles empruntés à des lésions naturelles résistent moins à la chaleur que les bacilles venant de cultures jeunes sur milieu solide glyciné.
- VII. La stérilisation par la méthode de Soxhlet (bain-marie d'eau bouillante pendant 45 minutes) n'a pas une action plus efficace que l'ébullition et ne peut donner une certitude absolue.
- VIII. Le chauffage non prolongé à des températures inférieures à celle de l'ébullition (70°, 80°, 90°) nous a paru atténuer, sinon la végétabilité du moins la virulence de certains bacilles de Koch, suffisamment pour que l'inoculation en reste négative chez le lapin et chez le cobaye.

Ce fait mérite d'être étudié d'une manière approfondie, car il n'est pas isolé en bactériologie.

IX. Le bacille de Koch dans le lait n'est sûrement tué qu'après une ébullition dont la durée reste à déterminer, mais qui doit être supérieure à 5 minutes.

VU :

Le Président de la Thèse,

ARLOING.

VU :

Le Doyen,

LORTET.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 15 décembre 1903.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

G. COMPAYRÉ.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ARLOING. — *Leçons sur la tuberculose et certaines septicémies*, 1892.
- ARLOING. — Examen critique des idées de M. Robert Koch. *Revue de la tub.*, VIII, p. 337, 1901.
- ARLOING. — Unité de la tub. hum. et de la tub. bovine. *Presse médicale*, 12 février 1902.
- ARLOING. — *Notes du cours de méd. exp. de la Faculté de médecine*, 1902.
- ARLOING. — *Jour. de phys. et de path. gén.*, 15 juillet 1903, p. 677.
- ARLOING. — *Rapport au congrès d'hygiène de Bruxelles*, 7 sept. 1903.
- ARLOING, CORNEVIN et THOMAS. — *Le Charbon symptomatique*, 2^e édition, Paris 1887.
- ARLOING. — (V. Chauveau).
- ARTHUS. — *Thèse de Paris*, 1903.
- ASCHER. — *Zeit. f. Hyg.* 1899, Bd. XXXII, S. 329.
- AUSSET et TOURNAY. — *C. R. du congrès d'hygiène*. Bruxelles, 7 sept. 1903.
- BANG. — *Deut. Zeit. f. Thiermed.* 1885, Bd. XI, S. 45 ; 1889, Bd. XVII, S. 15 ; 1890, Bd. XXVII.
- BANG. — *Cong. de la tub.* Paris 1898, p. 247 à 290.
- BANG. — *Cong. de la tub.* Londres 1901.
- BANG. — Ueber die Abtödtung der Tuberkelbacillen bei Waerme. *Zeit. f. Thiermed.*, 1902, S. 81.
- BARTHEL (Ch.). — *Revue gén. du lait*, 15 avril 1903.

- BARTHEL et STENSTROEM. — *Cent. f. Bakt.*, octobre 1901, Bd. XXX. S. 429.
- BASSET. — *Molkereizeit*. Berlin, Jahrg. 10, n° 23.
- BAUDOIN. — *Thèse de Paris*, 1895.
- BECK. — *Vierteljahrsch. f. off. Gesund.* 1900.
- BEHRING (E. von). — *Deut. med. Woch.* n° 39, 24 sept. 1903, S. 689.
- BENDIX. — *Jahrb. f. Kinderheilk.* Bd. XXXVIII, H. 4, S. 393.
- BIEDERT. — *Jahrb. f. K.*, 1884, S. 158.
- BIEDERT. — *Berl. klin. W.*, 25 nov. 1901, S. 1177.
- BITTER. — *Zeit. f. Hyg.*, 1890, S. 240.
- BOLLINGER. — *Arch. f. exp. Path. u. Phar.*, 1873. Bd. I, S. 356.
- BOLLINGER. — *Aertz. Intel. Blatt.*, 1879, S. 507, 1880.
- BOLLINGER. — *Muench. med. Woch.*, 1888, S. 479 et 500 ; 1889, S. 631 et 731 ; 1890, S. 567.
- BOLLINGER. — *Deut. Zeit. f. Thiermed.* Bd. I, II, IV. VI, VII, VIII, *passim*.
- BOLLINGER. — *C. R. X^e Congrès intern. de méd.* Berlin 1890, t. II. p. 147.
- BOLLINGER. — *Bericht ueber den Congress*. Berlin 1899, S. 102.
- BROWN. — *Annual. rep. of the veter. Depart. f. the year*, 1890, p. 8.
- BUDIN. — *Allaitement. Prog. méd.*, 4 juin 1892, 11 mars 1893 ; *Annales d'hygiène pub.*, juillet 1892 ; *Revue phil.*, 10 mai 1897, p. 31.
- BUDIN et CHAVANE. — *Allaitement des nouveaux-nés. Prog. méd.*, 9 juillet 1892, p. 57 ; *Bulletin de l'Académie de médecine*, 1892, XXVIII, p. 99 ; 1893, XXX, p. 157 ; 1894, XXXII, p. 67.
- CAZENEUVE. — *Stérilisation du lait. Lyon médical*, 10 et 24 mars 1895.

CHATERNIKOFF (M^{me}). — *Thèse de Paris*, 1899.

CHAUVEAU. — *Bull. de l'Acad. de méd.*, 17 nov. 1868 ; 1873 p. 591.

CHAUVEAU. — *Société de méd. de Lyon*, 31 janv. 1870.

CHAUVEAU et ARLOING. — *C. R. au congrès vét.*, 1885, p. 528.

CHAVANE. — (V. Budin). Du lait stérilisé. *Th. de Paris*, 1893.

COMBY. — Le lait stérilisé. *Soc. méd. des hôp.*, 10 oct. 1890.

Compte rendu du XI^e congrès int. d'hyg. *Ann. d'hygiène publique*, nov. 1903.

CONRADL. — *Muench. med. Woch.*, 1901, S. 175.

CROLAS. — Lait cru ou lait bouilli. *Société des sciences médicales de Lyon*, 1893.

CZERNY. — *Cent. f. Stoffwech. u. Verdauungskrank.*, 1902, Bd. III, S. 93.

CZERNY et KELLER. — *Der Kinderernæh*, 1901, Bd. I, S. 269.

DELÉPINE. — *J. of. comp. path. a. ther.*, 1901, T. XIV, p. 255.

DESFOSSÉS. — Stérilisation du lait. *Presse méd.*, 8 août, 3 octobre 1903.

DINWIDDIE (R.). — *Arkansas agric. exper. stat. bullet.* n° 57, 1899 ; n° 63, 1900.

DOBROKLONSKY. — *Cong. pour l'étude de la tub.*, Paris 1889, p. 265. — *Arch. de méd. exp. et d'anat. path.*, 1890, p. 253.

DOUGLAS. — *Zeit f. Medizinalbeamte*, 1899, n° 22.

DROUET. — *Jour. de clin. et de ther. infant.*, 1894.

DUCLAUX. — *Le lait*, Paris, 1887.

DUCLAUX. — *Annal. de l'Institut Pasteur*, 1889, p. 30 ; 1891, p. 50 ; 1895, p. 281 ; 1896, p. 393.

DUKES (Clément). — *The Lancet*, juin 1901, p. 1860.

ERNEST et PETERS (de Boston). — *Mois médical*, n° 9, 1895.

ERNST. — *Monatshefte. f. Thierh.*, 1900, Bd. XI, S 229.

- ESCHERICH. — *Muench. med. Woch.*, 1889, n^{os} 46 et 48.
- FADYEAN (J. Mac). — *Rep. of. the vet. Dep. f.* 1890, p. 13 ;
- FADYEAN (J. Mac). — *Jour. of. comp. Path. and ther.*, 1891, t. V, p. 22 ; sept. 1900 ; 1901, t. XIV, p. 215.
- FIEBIGER. — *Berl. klin Woch*, 22 sep. 1902.
- FJORD. — *Beretning f. Laboratoriat fort Landokonomiske forsæg. Kjobenhavn.*
- FLUEGGE. — *Zeit. f. Hyg.*, Bd. XVII, 1894, S. 272 ; Bd. XXXVIII, 1901, S. 1.
- FOURNIER. — *Bullet. Acad. méd.*, 1894, t. XXXII, p. 94.
- FREUDENREICH. — *Cent. f. Bakt.* Bd. IV, Heft II, S. 309.
- FRIEDMANN (Frantz). — *Zieglers Beitræge zur path. Anat.* XXVIII, 1900, S. 66.
- GALTIER. — *Traité des maladies contagieuses*, 1^{re} éd. p. 575.
- GALTIER. — *Congrès de la tuberculose*, 1888, C. R., p. 76.
- GALTIER. — *Journal de médecine vét. et de zootechnie de Lyon*, janvier 1900, p. 1 et 28, février 1901.
- GALTIER. — *C. R. Soc. biol.*, 3 fév. 1900, p. 120.
- GARNAULT. — *Le professeur Koch et le péril de la tub. bovine*, Paris, 1902, p. 31 à 62.
- GAUTRELET. — *Société médico-chirur.*, Paris, 25 mars 1895.
- GERLACH. — *Jahresb. der kgl. Thierarzneischule zu Hannover*, 2 Ber. f. d. J. 1869, S. 133.
- GERLACH. — *Arch. f. Wissensch. und prakt. Thierheilk*, 1875, Bd. I, S. 1.
- GOTTSTEIN (Ad.) et HUGO MICHAELIS. — *Deut. med. Woch.*, 1901, n^o 11, S. 162.
- GRATIA et LIÉNAUX. — *Annal. de méd. vét.*, 1888, p. 640.
- GRAWITZ (Paul). — *Deut. med. Woch.*, 10 oct. 1901, S. 711.
- HAMMOND. — *Americ. vet. Review*, 1898.
- HARRIETTE CHICK. — *Cent. f. Bakt*, 1901, VII, S. 705.

- HEIDENHAIN. — *Cent. f. Bakt*, 1900, VIII, S. 488.
- HENSEVAL et MULLIE. — *Rapp. au cong. d'hyg. de Bruxelles*, 7 sept. 1903.
- HESSE. — *Zeit. f. Hyg.*, 1900, Bd. XXXIV.
- HESSE. — *Zeit. f. Thiermedizin*, 1901, S. 321.
- HEUBNER. — *Berl. klin. Woch.*, 1895, n° 10.
- HEUBNER. — *Jahr. f. Kinderheilk*, Bd. XXXII, S. 27.
- HIRSCHBERGER. — *Deut. Archiv. f. klin. Méd.*, 1889, S. 500.
- HUEPPE. — *Berl. klin. Woch.*, 1891 ; 1901, Bd. XXXVIII, S. 876.
- HUART (J.). — *Revue gén. du lait*, I, p. 28 et 180.
- ICARD. — *L'allaitement des nouveau-nés*, Paris 1897.
- JOHANNESSEN (Axel.). — *Progrès médical*, 1901, t. XIII, p. 124 et 148.
- JOHNE. — *Deut. Zeit. f. Thiermed*, Bd. IX, S. 1.
- Journal du congrès d'hygiène et de démographie de Bruxelles*, sept. 1903.
- KASTNER (W.). — *Muench. med. Woch.*, 1889, S. 583 et 600 ; 1892, S. 342.
- KLEBS. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharmak.*, 1873, Bd. I, S. 163.
- KLEIN. — *Cent. f. Bakt.*, 1900, XXVIII, S. 111.
- KOBRAK (E.). — *Berl. klin. Woch.*, 3 mærz 1902, S. 187.
- KOCH. — Communication au congrès britannique de la tuberculose. *The Lancet* et *Brit. med. Journ.*, 27 juil. 1901 ; *Deut. med. Woch.*, 15 août 1901.
- KOCH. — *Discours prononcé à la conférence internationale de la lutte contre la tuberculose*. Berlin, octobre 1902.
- LAURENT (A.). — *Rev. d'hyg. et de police sanit.*, 1889, p. 1083.
- LAZARUS. — *Zeit. f. Hyg.*, 1890, Bd. VIII, S. 207.
- LECLAINCHE. — (V. Nocard). *Revue de la tuberculose*, 1894 p. 133.

- LECLAINCHE. — *C. R. du congrès d'hygiène de Bruxelles*, 7 sept. 1903.
- LEEDS et DAVIS. — *The americ. Jour. of. med. scien.*, juin 1891.
- LESLIE-EASTES (G.). — *Brit. med. Journ.*, 11 novembre 1899, p. 1341.
- LÉVY et BRUNS. — *Hyg. Rundschau.*, XI Jahrg, n° 14.
- MAAR. — *Inaug. Dissert.* Erlangen, 1889.
- MAGNIAUX. — *Normandie médicale*, 15 janvier 1900.
- MANN (VON). — *Archiv. f. Hyg.*, 1893.
- MARFAN. — *Traité de l'allaitement*, Paris 1899.
- MARFAN. — *Soc. d'obs. de gynécol. et de pédiatrie de Paris* 13 janv. 1902.
- MARSHALL. — *Michigan Stat. Bull.* 137, p. 311, in *Molke-reizeit*, Berlin, Jahrg 10. H. 6.
- MAUCHAMP. — *Allaitement artificiel des nourrissons. Thèse de Paris*, 1898.
- MAY (F.). — *Archiv. f. Hyg.*, 1883. Bd. I, S. 121.
- MICHEL. — *L'obstétrique*, 15 janvier 1896, p. 25. — *Thèse de Paris*, 1896.
- MICHELAZZI. — *Annal. d'Igien. speriment.*, 1901, p. 201.
- MOHLER (J. R.). — *Bull. of. Bureau of. an. Indust.*, n° 44, Washington 1903.
- MONRAD. — *Jahr. f. Kinderheilk.*, 1901, H. 1, S. 62.
- MULLIE (V. Henseval). — *Rapp. au Cong. d'hyg.* Bruxelles, 7 septembre 1903.
- NEUMANN. — *Deut. med. Woch*, 1902, nos 35 et 36.
- NICOLAS et DESCOS. — *C. R. Société de biologie*, 19 juillet 1902.
- NOCARD. — *Bull. Soc. cent de méd. vét.*, 1885, p. 49.
- NOCARD. — *Cong. pour l'étude de la tuberculose*, 1888, 1^{re} session, C. R., p. 53.

- NOCARD et LECLAINCHE. — *Les maladies microbiennes des animaux*, t. II, 3^e édition.
- OPPENHEIMER. — *Muench. med. Woch.*, 1899, n^o 44.
- OSTERTAG. — *Zeit. f. Fleisch = und Milchhyg.*, 1899. Heft IX. S. 168; X, S. 193. 1901, Heft I, S. 1, III S. 72, IV, S. 105.
- OSTERTAG. — *Zeit. f. Hyg.* Bd. XXXVIII, 1901. S. 415, 457.
- OSTERTAG. — *Rapp. au congrès d'hyg.*, Bruxelles, sept. 1903.
- OSTERTAG et DE JONG. — *Zeit. f. Fleisch = u. Milchhyg.*, 1899. Heft XII, S. 240.
- PAPAPANAGIOTOU. — *Allait. mixte et artif. des nourrissons par le lait stérilisé*. Athènes, 1896.
- PAPAPANAGIOTOU. — *Morbid. et mortalité des enfants à Athènes*. Athènes, 1899.
- PASQUALE DE MICHELE. — *La Pediàtra*, août 1894.
- PERRONCITO. — *II^e Congrès de la tuberculose*, 1891. C. R., p. 308. — *Ce. f. Bakt.*, 1892, p. 429.
- PEUCH. — *C. R. Acad. des sciences*, t. 90, 1880, p. 1581.
- PEUCH. — *Congrès de la tuberculose*, 1888, C. R., p. 74.
- PHELPS. — *Elev. ann. rep.* Connecticut, 1898. 1 Teil.
- PINARD. — *Revue scientifique*, 1897, n^o 5 (2^e semestre).
- PINARD. — *Soc. d'obs. de gyn. et de pédiatrie de Paris* (13 janvier 1902).
- PUPIER (Eug.). — *Thèse de Lyon*, 1903.
- RABINOWITSCH (M^{me} L.). — *Deut. med. Woch.* 1900, n^o 26.
- RABINOWITSCH (M^{me} L.). — *Zeit. f. Hyg.* Bd. XXXVII, 1901.
- RABINOWITSCH (M^{me}) et KEMPNER. — *Archiv. f. Thierheilk.* Bd. XXV, 1899, S. 211.
- RABINOWITSCH (M^{me}) et KEMPNER. — *Cent. f. Bakt.* Bd. XXVI, 1899, S. 289.
- RABINOWITSCH (M^{me}) et KEMPNER. — *Zeit. f. Hyg.* Bd. XXXI, 1899, S. 137.

- RAUDNITZ. — *Zeit f. physiol. Chem.* Bd. XIV, 1890, S. 1.
- RAVENEL. — *Journ. of. compar. med. et veter archiv.* Déc. 1897.
- REICHMANN. — *Zeit. f. klin. Med.* Bd. IX, 1886, S. 565, 588.
- RENARD. — *in* DESFOSSES. *Presse méd.*, 8 août 1903.
- Résumé des législations étrangères sur le commerce du lait.*
Bruxelles 1903.
- RODET. — *Lyon médical*, 1894, t. III, p. 564 et 597; 1895, t. I.
p. 12.
- ROSAM. — *Cent. f. Bakt.* Bd. VIII, 1902, S. 739.
- ROTHSCHILD. — *Pasteurisation et stérilisation du lait.* Paris, 1901.
- ROTHSCHILD. — *Rapport au Cong. d'hyg.* Bruxelles, 7 sept. 1903,
p. 8.
- RUSSEL et HASTINGS. — *Wisconsin Agric. Rep.* 1901, p. 193.
- RUSSEL et HASTINGS. — *Rapport au Cong. d'hyg.* Bruxelles,
7 septembre 1903.
- SCHAMELHOUT. — *C. R. du Congrès d'hyg.* Bruxelles, 7 sept. 1903.
- SEIBERT. — *New-York med. journ.*, 1890, p. 172.
- SEMMER. — *Deut. Zeit f. Thiermed.* 1876. Bd. II, S. 209.
- SILBERSCHMIDT. — *Deut. med. Woch.* 1903, S. 473, 502.
- SMITH (Théobald). — *Transact. of the Assoc. of american phy.*,
1896, p. 75; 1898, p. 417.
- SMITH (Théobald). — *Journ. of. exp. med.* 1899, t. IV. n° 2.
- SOELDNER. — *Die Salze der Milch.* 1888, p. 79.
- SONNENBERGER. — *Deut. med. Woch.* 1890, nos 48, 49.
- SOXHLET. — *Muench. med. Woch.* 1886, S. 253, 276. — 1891,
S. 335, 353.
- STEIN. — *Inaug. Dissert.* Berlin 1884.
- STÜTZER. — *Landwirthschaftliche Versuchstation von Nobbe.*
Bd. XL, S. 317.
- TARNIER. — *Bull de l'Acad. de méd.*, 1894, p. 93 et 94.

- THOMASSEN. — *Revue de méd. vétér.* 1901, p. 529.
- THOMASSEN, SIEGEN, MOROT, STUBBE. — *Cong. de la tub.* Paris 1898, p. 306.
- THOERNER. — *Chem. Centralblatt.* 1895, Bd. I, S. 239.
- TJADEN. — *Rapp. au Cong. d'hyg.* de Bruxelles, 7 sept. 1903.
- TJADEN, KOSKE et HERTEL. — *Arbeit aus dem kais. Gesundheitsam.* 1901. Bd XVIII, S. 290, 295, 312.
- TONZIG. — *Archiv. f. Hyg.*, t. XLI, 1901, S. 46, 68.
- TRIPPIER (R.). — *Cours d'anat. path. de la Faculté*, 1902-03.
- UFFELMANN. — *Archiv. f. ges. Physiol.* Bd XXIX, S. 339.
- UHLIG. — *Jahr f. Kinderheilk.*, 1890, Bd. XXX, S. 83.
- VALLIN. — *Semaine médicale*, 1884, p. 364.
- VARIOT. — *The Lancet*, 1901, t. II, p. 49.
- VEYSSIÈRE et HUMBERT. — *C. R. Cong. de la tub.* 1888, p. 97.
- VILLEMIN. — *Etude sur la tuberculose*, Paris 1868.
- VINAY. — *Lyon médical*, 1891, t. II, p. 415.
- WEBER. — *Bull. soc. méd. publ.* 1892.
- WOLFF (Max). — *Deut. med. Woch.*, 1902, S. 566.
- WOODHEAD (Sims). — *The royal commiss. on tuberculosis*, 1895.
- WROBLEWSKI. — *Oesterr. Chemikerztg.*, n° 1, 1898.
- YERSIN. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1888.
- ZWEIFEL. — *Aetiol. Proph. und. Ther. der Rachit.* Leipzig, 1900.

